

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE E IRRITABILIDAD
DÉRMICA DEL ACEITE DE UNGURAHUI
OENOCARPUS BATAUA PARA USO
COSMÉTICO”**

TESIS

Para optar el grado académico de Magíster en Recursos Vegetales y
Terapéuticos

AUTOR

Rosa María Camacho Cervantes

ASESOR

Mario Carhuapoma Yance

Lima – Perú

2015

A Dios: Padre, Jesús y al Espíritu Santo, por su ayuda diaria, gracias.

A todos mis seres queridos con los que he compartido muchos momentos de mi vida: Haydee, Marcelino, Elba, Irma, Gladys, Ivonne, Marcelo, Eleana, Cesar, Katty, Paulo Cesar, Chichi, Laura, Carlos, Katty, Marite, Piero, Julio, Robert, Robert Jr, Marcelo, Karen, Daniela, Claudio.

A mi amiga Mary Misol Delgado, a quien el Señor llamó a su presencia, por su ejemplo de sencillez y dedicación a la profesión farmacéutica. Siempre estarás en el corazón de la Promo 87.

Agradecimientos

A mi asesor, Dr. Mario Carhuapoma Yance, por su tiempo y apoyo en la realización del presente trabajo.

A los miembros del jurado: Dra. Arilmi Gorriti Gutiérrez, Dr. Américo Castro Luna, Dr. Pablo Bonilla Rivera y Mg. César Canales Martínez.

A los colegas del Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-CENPROFARMA-UNMSM.

A los colegas del Centro de Información, Control Toxicológico y Apoyo a la Gestión Ambiental-CICOTOX de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM.

A la empresa Pebani Inversiones S.A.

INDICE

RESUMEN

SUMMARY

| | Pág. |
|---|----------|
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO..... | 3 |
| 2.1 Antecedentes..... | 3 |
| 2.1.1 Ubicación taxonómica..... | 3 |
| 2.1.2 Descripción botánica..... | 4 |
| 2.1.3 Distribución geográfica, ecología y suelo..... | 8 |
| 2.1.4 Producción y cosecha..... | 10 |
| 2.1.5 Investigación fitoquímica y valor nutricional del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 10 |
| 2.1.6 Extracción del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 15 |
| 2.1.7 Investigación etnobotánica, etnofarmacológica y Farmacológica..... | 16 |
| 2.1.8 Aplicación cosmética..... | 17 |
| 2.2 Composición química y propiedades de los aceites vegetales | 18 |
| 2.3 Actividad antioxidante..... | 22 |
| 2.3.1 Radicales libres..... | 22 |
| 2.3.2 Estrés oxidativo: papel en el envejecimiento y patologías..... | 23 |
| 2.4 Sistemas de defensa antioxidante..... | 24 |
| 2.4.1 Reacciones enzimáticas de la defensa antioxidante..... | 24 |
| 2.4.2 Mecanismo de acción y clasificación de los antioxidantes... | 24 |
| 2.5. Métodos de evaluación de la actividad antioxidante..... | 26 |
| 2.5.1 Reacción con el radical 2,2 difenil-1-picril hidrazilo (DPPH.) | 27 |

| | |
|---|---------------|
| 2.6 Ensayos de irritación dérmica aguda/corrosión..... | 28 |
| 2.6.1 Consideraciones generales..... | 28 |
| 2.6.2 Principios del ensayo <i>in vivo</i> | 29 |
| 2.6.3 Capacidad irritante dérmica..... | 29 |
| 2.6.4 Capacidad corrosiva..... | 30 |
| III. PARTE EXPERIMENTAL..... | 31 |
| 3.1 Materiales y métodos..... | 31 |
| 3.1.1 Lugar de ejecución..... | 31 |
| 3.1.2 Materiales, equipos y reactivos..... | 31 |
| 3.1.2.1 Materiales..... | 31 |
| 3.1.2.2 Reactivos..... | 32 |
| 3.1.2.3 Material biológico..... | 32 |
| 3.1.2.4 Equipos..... | 32 |
| 3.1.3 Métodos..... | 32 |
| 3.1.3.1 Recolección de la muestra vegetal..... | 32 |
| 3.1.3.2 Procesamiento y extracción del aceite de <i>Oenocarpus</i> <i>bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 33 |
| 3.1.3.3 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 33 |
| 3.1.3.3.1 Procedimiento..... | 34 |
| 3.1.3.4 Evaluación de irritabilidad dérmica..... | 38 |
| 3.1.3.4.1 Procedimiento..... | 38 |
| 3.1.3.4.1.1 Selección de especies de animales..... | 38 |
| 3.1.3.4.1.2 Preparación de los animales..... | 38 |
| 3.1.3.4.1.3 Alojamiento y alimentación..... | 39 |
| 3.1.3.4.1.4 Aplicación de la sustancia de ensayo..... | 40 |
| 3.1.3.4.1.5 Dosis | 40 |
| 3.1.3.4.1.6 Período de observación..... | 43 |

| | |
|--|-----------|
| IV. RESULTADOS..... | 45 |
| 4.1 Resultados del ensayo de determinación de la actividad antioxidante del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 45 |
| 4.2 Resultados del ensayo de irritabilidad dérmica del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 49 |
| V. DISCUSIÓN..... | 52 |
| VI. CONCLUSIONES..... | 56 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 57 |
| VIII. ANEXOS..... | 64 |

RELACION DE TABLAS

| | pp. |
|--|-----|
| Tabla 1. Composición de ácidos grasos del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 12 |
| Tabla 2. Contenido en constituyentes menores y composición de esteroides del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 13 |
| Tabla 3. Ensayos de calidad y pureza realizados en el aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 14 |
| Tabla 4. Clasificación de los antioxidantes..... | 25 |
| Tabla 5. Antioxidantes enzimáticos..... | 26 |
| Tabla 6. Preparación de los tubos para su lectura en el espectrofotómetro..... | 37 |
| Tabla 7. Escala de graduación de reacciones cutáneas..... | 44 |
| Tabla 8. Resultados del ensayo de irritación dérmica con aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 51 |

RELACION DE FIGURAS

| | pp. |
|--|-----|
| Figura 1. Palmera de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 4 |
| Figura 2. Hojas de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 5 |
| Figura 3. Frutos de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 6 |
| Figura 4. Tallo de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 7 |
| Figura 5. Raíz de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 8 |
| Figura 6. Método artesanal de extracción de aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”: despulpado..... | 15 |
| Figura 7. Preparación de la solución de DPPH en cloroformo..... | 35 |
| Figura 8. Pesaje del aceite para la preparación de soluciones de aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui”..... | 35 |
| Figura 9. Preparación de soluciones de aceite de ungurahui en cloroformo al 6, 8 y 10%..... | 36 |
| Figura 10. Lectura de las muestras en el espectrofotómetro..... | 36 |
| Figura 11. Preparación de los conejos: depilación de la piel a ambos lados de la columna vertebral..... | 39 |
| Figura 12. Alojamiento individual y alimentación de los conejos..... | 40 |
| Figura 13. Aplicación del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” sobre la piel del conejo..... | 41 |
| Figura 14. Aplicación de parche de gasa estéril sobre la piel del conejo | 41 |

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 15. | Fijación del parche de gasa estéril con esparadrapo hipoalergénico..... | 42 |
| Figura 16. | Permanencia del conejo por 4 horas en contacto con el parche conteniendo aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” | 42 |
| Figura 17. | Retiro de parches luego de 4 horas y lavado con solución salina..... | 43 |
| Figura 18. | Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” obtenida a las diferentes concentraciones de 6%, 8%, 10% y 12%..... | 45 |
| Figura 19. | Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” al 6% comparada con la vitamina E..... | 46 |
| Figura 20. | Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” al 8% comparada con la vitamina E..... | 47 |
| Figura 21. | Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” al 10% comparada con la vitamina E..... | 48 |
| Figura 22. | Comparación de la actividad antioxidante por concentraciones del aceite de <i>Oenocarpus bataua</i> Mart “ungurahui” y la vitamina E frente al DPPH | 49 |
| Figura 23. | Observación de la piel de conejo para signos de eritema y edema inmediatamente de retirado el parche..... | 50 |
| Figura 24. | Observación de la piel del conejo: no presenta signos de eritema y edema a las 72 horas de retirado el parche..... | 50 |

RESUMEN

El estudio de la actividad antioxidante de aceites fijos es muy frecuente debido a la gran importancia de su uso en cosmética moderna. El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* e irritabilidad dérmica del aceite del fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”. En la determinación de la actividad antioxidante del aceite se empleó el método del radical estable 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), utilizando como patrón de referencia la vitamina E (alfa tocoferol acetato). El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” mostró una actividad antioxidante de 68,42; 91,38; 87,88 y 85,12 % a las concentraciones de 6, 8, 10 y 12 % respectivamente, en comparación con la vitamina E que presentó una actividad antioxidante de 77.51, 93.42 y 92.73 % a las concentraciones de 6, 8 y 10%. La irritabilidad dérmica se evaluó empleando la prueba de toxicidad dérmica N° 404 de la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD). Los resultados obtenidos después de la administración del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” mostraron que no se produjeron lesiones en los sitios de aplicación, por lo que se obtuvo un índice de irritación primario igual a 0, lo que evidencia que el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se puede clasificar como no irritante para la piel, de acuerdo a este modelo de estudio se puede sugerir el uso del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” en la industria cosmética.

Palabras clave: *Oenocarpus bataua* Mart, actividad antioxidante, irritabilidad dérmica.

SUMMARY

The study of antioxidant activity of fixed oils is very common due to its great importance in modern cosmetic use. The objective of this research was to evaluate the *in vitro* antioxidant activity and the dermal irritability of *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” oil fruit. In the determination of the oil antioxidant activity, the method of stable free radical 2,2 diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH) was employed, using vitamin E (alpha tocopherol acetate) as a reference substance. *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” oil showed an antioxidant activity of 68.42, 91.38, 87.88 and 85.12 % at the concentrations of 6, 8, 10 y 12 % respectively, in comparison with vitamin E that presented an antioxidant activity of 77.51, 93.42 and 92.73 % at the concentrations of 6, 8 y 10%. The dermal irritability was evaluated employing the dermal toxicity test number 404 of the Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD). The obtained results after the administration of the *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” oil showed that no lesions remain in application sites; therefore the Primary Irritation Index was zero, which evidenced that *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” oil may be classified as no irritating for the skin, according to this model study, may suggest to use *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” oil in cosmetics industry.

Key words: *Oenocarpus bataua* Mart, antioxidant activity, dermal irritability

I. INTRODUCCIÓN

Oenocarpus bataua Mart “ungurahui”, es una palma que se localiza en la región amazónica, considerada promisoría porque sus frutos contienen proteínas y un aceite de alta calidad. Las comunidades de América del Sur y de Centroamérica, vienen extrayendo el aceite principalmente mediante métodos tradicionales¹.

El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” presenta ácidos grasos no saturados, comparable en apariencia y composición al aceite de oliva. Ha sido evaluado con respecto a sus características bromatológicas, destacando su valor nutricional. También posee propiedades curativas y ha sido empleado por las comunidades amazónicas como tónico en el tratamiento de la caída del cabello, la caspa y cuidado de la piel, pudiendo ser empleado en la elaboración de jabones, cremas hidratantes, entre otros productos cosméticos ².

Diversos compuestos presentes en aceites vegetales tienen la propiedad de actuar como antirradicales o antioxidantes. Desde hace décadas, se ha evidenciado la relación directa que existe entre la sobreproducción de radicales libres en el organismo y diversos desórdenes fisiológicos, ciertos estados patológicos y con el envejecimiento. A fin de impedir la acumulación de radicales libres, el organismo cuenta con diferentes mecanismos de defensa antioxidantes producidos de manera endógena, pero a medida que se avanza en edad y/o por condiciones de fuertes agresiones prooxidativas, como la exposición solar intensa y reiterada, estos medios resultan insuficientes para

proteger al organismo, por lo que los antioxidantes son comúnmente empleados en el cuidado de la piel para prevenir este envejecimiento ³.

Asimismo, los productos que son aplicados sobre la piel, deben ser evaluados para garantizar su seguridad. Se han propuesto ensayos de irritabilidad dérmica para los posibles efectos causados por cualquier sustancia que se ponga en contacto con la piel, que garanticen, dentro del margen de error que siempre trae aparejada la extrapolación del animal al hombre, que los productos que resulten no irritantes, no lo serán potencialmente en el hombre ⁴.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante *in vitro* e irritabilidad dérmica del aceite del fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” y su posible aplicación en productos cosméticos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes generales referentes a la especie.

2.1.1 Ubicación taxonómica

El *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”, antes incluido en el género *Jessenia*, pertenece ahora al género *Oenocarpus*, que significa “fruta de vino”, recibió este nombre de los primeros exploradores de América que observaron el empleo del fruto en la producción de refrescos y bebidas altamente nutritivas ⁵.

Se ubica en la siguiente categoría taxonómica:

División: Magnoliophyta
Clase: Liliopsida
Sub clase: Arecidae
Orden: Arecales
Familia: Arecaceae (Palmae)
Tribu: Areceae
Subtribu: Euterpeinae
Género: *Oenocarpus*
Especie: *Oenocarpus bataua* Mart.

Nombre científico: *Oenocarpus bataua* Mart.

Sinonimia científica aceptada: *Jessenia bataua* sbsp. *Bataua*; *Jessenia weberbaueri* Burret; *Oenocarpus bataua* C. Martius; *Jessenia polycarpa* ^{6,7}.

Sinonimia vulgar o nombre común: **Perú:** cuuruhu (bora), hunguravi, ungurahui, shegal (machiguenga), itá (shipibo), kunkuk (aguaruna), sacumana, sinami, ingurabe, chocolatera; **Colombia:** milpesos, seje, patabá, palma de leche, palma de seje, aricaguá; **Brasil:** batauá, pacauá, patauá pranca, pataua; **Venezuela:** palma seje, aricaguá, aricacua, curuba, hunguravi; **Ecuador:** chapil, ungurahua, colaboca, shimpi, shigua; **Bolivia:** majo ⁵⁻⁹.

2.1.2 Descripción botánica

Palmera monocaule, de 15 a 35 m de altura y de 15 a 30 cm de DAP (diámetro del tronco a la altura del pecho). Estípite desarmado y con fisuras verticales tenues; con anillos de aproximadamente 5 cm de ancho, cada 20 a 30 cm en los primeros metros, luego más cortos ¹⁰.



Figura 1. Palmera de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

El sistema radicular es emergente, penacho foliar de 6 m de altura y 8 m de amplitud, de tono glauco. Hojas compuestas pinnadas en número de 7 a 16, en arreglo espiral, de 3 a 10 m de largo; vaina de 0,5 a 1,4 m, peciolo de 0,2 a 1,0 m y raquis de 3 a 9 m. Foliolos en número de 80 a 110 por lado, dispuestas en un solo plano, de forma linearlancioladas, los foliolos medios de 85 a 165 cm de longitud y 7 a 14 cm de ancho y los basales de 60 a 150 cm de largo y 2,5 a 4,0 cm de ancho, haz verde oscuro, envés blancuzco ⁹. Las hojas son producidas durante todo el año ⁷. Es monoica, con inflorescencias intrafoliares; cada inflorescencia puede alcanzar hasta 2 m de largo, incluyendo pedúnculos florales hasta 40 cm ¹¹.

Los troncos jóvenes están habitualmente cubiertos con vainas de hojas viejas, los más viejos están limpios y tienen nudos mas o menos conspicuos ⁷.

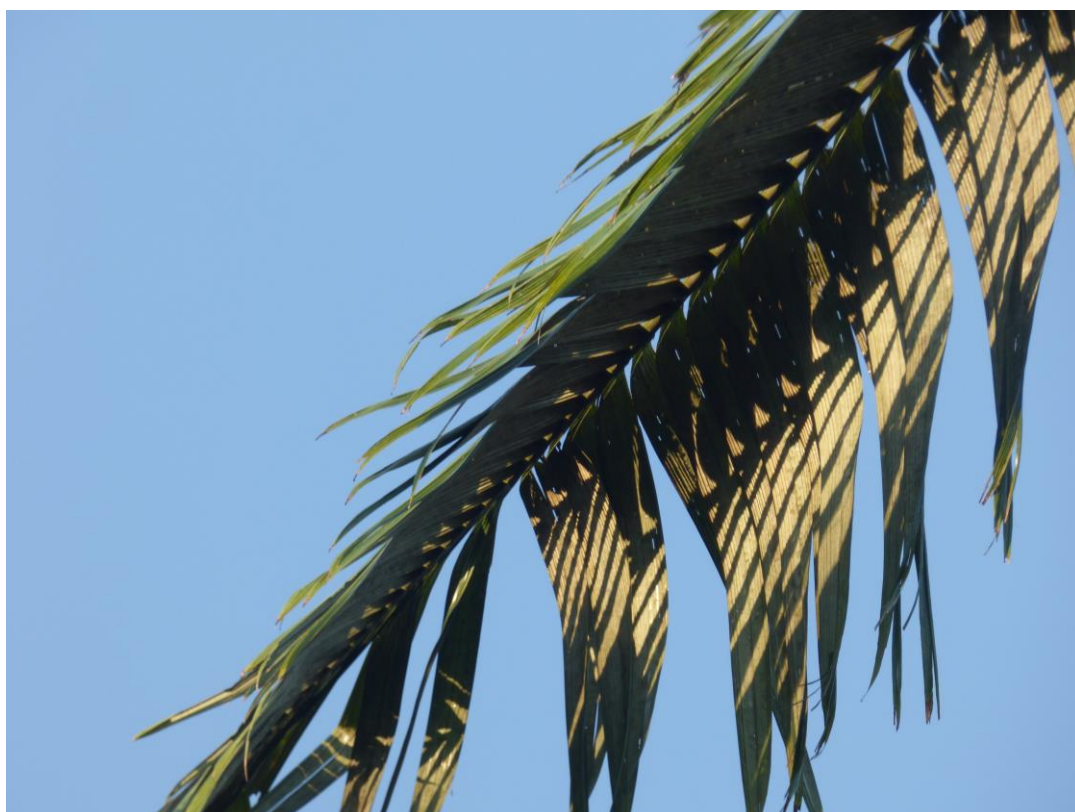


Figura 2. Hojas de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

En la axila de cada hoja adulta se produce una sola inflorescencia, alcanzando maduración completa durante el año solamente de 1 a 3 inflorescencias. La inflorescencia es una panícula intrafoliar, con 120 a 350 raquillas, 70 cm hasta 2 m de largo, de 4 a 7 mm de diámetro. Flores unisexuales de color pardo cremoso. Flores masculinas con 9 a 12 estambres, flores femeninas con pistilo ovoide pequeño ^{11,12}.

El fruto es una drupa, ovoide o elipsoide, de 2,3 a 3,6 cm de largo y 1,7 a 2,3 cm de diámetro ¹³ agrupados en racimos con peso entre 2 a 32 kg, con 500 a 4000 frutos ¹² epicarpo liso, recubierto de indumento seroso y de color negro violáceo a la madurez; mesocarpo carnoso, oleaginoso, de aproximadamente de 0,5 a 1,5 mm de espesor y de color entre blanco y violeta; endocarpo, duro, leñoso, cubierto por grandes fibras oscuras; endospermo ruminado ⁹. Los frutos inmaduros son verdes y al madurar se tornan morados a negros ¹¹.



Figura 3. Frutos de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” ¹⁴

Fruto elipsoide a globoso con una semilla. Los frutos inmaduros están presentes durante todo el año con picos máximos desde enero (época húmeda), hasta agosto (época seca). Los frutos maduros ocurren principalmente a finales de la época seca extendiéndose hasta los inicios de la época de transición seca-húmeda ¹⁵.



Figura 4. Tallo de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.



Figura 5. Raíz de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

2.1.3 Distribución geográfica, ecología y suelos

El *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” es una palma que se localiza en el norte de Sudamérica y sur de Centro América, en la región amazónica. La zona de Iquitos en el Perú es una de las mas ricas en palmas en la amazonía y en el neotrópico en general y esta riqueza está reflejada en una diversidad correspondiente a los usos de las palmas en la región ¹.

Es una especie nativa de América Tropical, de probable origen amazónico donde ocurre en forma silvestre. En la cuenca amazónica está distribuida en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela y Guyana. Se encuentra ampliamente distribuida por América del sur, desde Panamá hasta Ecuador por la costa del Pacífico, pasando por Trinidad, Brasil, Bolivia, Surinam y las Guyanas, desde el nivel del mar hasta los 1000 m de altura ¹².

En la selva peruana se encuentra en los Departamentos de Loreto, Ucayali, San Martín, Madre de Dios, Huánuco, Pasco y Junín ⁹.

Esta especie crece en hábitats variados, desarrollándose principalmente en zonas húmedas pantanosas con inundaciones periódicas a lo largo de los ríos, también se encuentra en tierras no inundables, en menor densidad debido a la competencia del resto de vegetación. En el Perú, el *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se encuentra en los bosques de quebrada, en suelos con un horizonte hidromórfico (gleysoles) y acumulación de materia orgánica en la superficie. Los suelos inundados son generalmente muy arenosos con contenido relativamente alto de materia orgánica y un horizonte impermeable en el subsuelo, mientras que en los suelos inundables periódicamente en las zonas aluviales, son gley húmico, altos en limo, materias orgánicas y nutrientes que se renuevan fácilmente ¹².

Las palmas de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se encuentran como plantas aisladas en suelos bien drenados de las partes altas o, formando colonias oligogárquicas del complejo *Oenocarpus-Jessenia* con hasta 900 plantas jóvenes de ungurahui en los suelos inundados periódica o permanentemente. Se adapta a diversidad de suelos ricos en materia orgánica, ultisoles, oxisoles, inceptisoles, alfisoles, entisoles y especialmente a spodosoles arenosos pobres en nutrientes . En los bosques con buen drenaje, las palmas no tienen tanta densidad, debido probablemente al sombreado que disminuye su desarrollo. La planta de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” requiere de alta luminosidad para fructificar, por lo que produce muy bien en zonas bien drenadas, si se elimina la competencia por luminosidad. La ausencia de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” en zonas con altitud superior a 950 m, sugiere poca tolerancia a los climas templados o a los fríos ocasionales que se presenta en estas localidades. La precipitación pluvial en las zonas bien drenadas donde crece adecuadamente está en el rango de 1,700 a 4,000 mm al año. Las condiciones ambientales adaptativas son: Biotemperatura media máxima anual de 25,1°C y biotemperatura media mínima anual de 17,2°C. Promedio máximo de precipitación anual de 3,419 mm y promedio mínimo de 1,020 mm. Altitud variable desde el nivel del mar, hasta 900 msnm ⁷.

2.1.4 Producción y cosecha

El inicio de la fructificación aun no ha sido determinado; bajo cultivo, se asume ocurra entre 5 y 6 años después de la plantación y en el bosque natural, el tiempo debe ser mayor, debido al sombreado causado por las especies leñosas asociadas. La fructificación ocurre de enero a diciembre, la mayor cosecha se concentra en los meses de junio, setiembre y noviembre. Los frutos fisiológicamente maduros, se desprenden del racimo y caen al suelo. La cosecha usual, es manual y directa del suelo. Una modalidad destructiva de cosecha, es tumbando la palmera, cuando se observan signos de maduración, manifestados por inicio de caída de frutos visualizados en el pie de la planta. El fruto fisiológicamente maduro es perecible. Después de 78 días de la cosecha, se deteriora y enrancia el aceite. El fruto cosechado de la planta, debe almacenarse 24 días para que complete su maduración ⁹.

Para implementar programas de manejo y aprovechamiento de la especie, es importante considerar que la producción de frutos maduros no es continua, sino que se presenta durante 22 meses, alternada con 12 meses de oferta nula ¹¹.

Comercialmente, el método de cosecha probado, que tiene mayores ventajas por su bajo costo, seguridad y facilidad de elaboración y transporte es el uso de subidores o estrobos elaborados con cuerdas de nylon (driza), la cosecha se realiza trepando a la planta y cortando el racimo con machete ^{9,14}.

2.1.5 Investigación fitoquímica y valor nutricional del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”

La pulpa del fruto es rica en lípidos, proteínas y vitaminas. Del fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” (mesocarpio y pericarpio), se extrae un aceite de mejor o igual calidad que el aceite de oliva. El mesocarpio seco contiene alrededor de 7,4% de proteínas, lo cual es relativamente alto para pulpas de frutas tropicales que tienen generalmente 1-5% de proteínas en

materia seca. El contenido de minerales es cerca de 1.5% en materia seca que es una concentración común en pulpa de frutas tropicales. Se ha determinado también contenido de vitamina E en la pulpa de los frutos de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” ^{6,16}.

La fruta fresca tiene entre 35,6 a 44,7% de pulpa. El contenido de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” es de 29,1% en materia seca similar a otros frutos como el de oliva (18-35%)¹⁶.

La pulpa de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” presenta una cantidad interesante de aminoácidos en su composición. Entre los aminoácidos no esenciales destacan: el ácido aspártico, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, arginina, y serina, y en aminoácidos esenciales destacan: leucina, treonina, valina, lisina, isoleucina y tirosina ².

En un estudio realizado, se encontró un contenido de alfa tocoferol en la pulpa del fruto (materia seca) de 6.1 ± 0.1 mg/100g. La pulpa de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” tiene una composición polifenólica original, con presencia significativa de estilbenos, ácidos cafeilquínicos, derivados del ácido hidroxibenzoico y procianidinas, que no han sido reportadas en otras especies del género *Oenocarpus*. El mayor contenido de compuestos polifenólicos corresponde a la procianidinas. El fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” puede ser considerado rico en taninos. Los estilbenos representan el mayor grupo de compuestos fenólicos simples, los que confieren a este fruto una actividad biológica adicional y materia potencial de investigación farmacéutica y cosmética. Los ácidos cafeilquínicos también son abundantes siendo el principal el ácido clorogénico que tiene actividad antioxidante. También contiene antocianinas ¹⁷.

La energía bruta de la pulpa es alta, 1132 kJ para 100 gramos de peso fresco, es muy energética debido a la concentración de ácidos grasos y carbohidratos, especialmente carbohidratos disponibles. El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” ha sido evaluado con respecto a sus características

bromatológicas, destacando su valor nutricional, contiene entre 77 y 82% de ácidos grasos no saturados y 2 a 4 % de ácidos grasos saturados.^{7,16}.

La composición en ácidos grasos y constituyentes menores del aceite extraído del mesocarpio de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se presenta en las tablas 1 y 2:

Tabla 1.- Composición de ácidos grasos del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”^{10,12,18}

| Ácidos grasos | <i>Oenocarpus bataua</i> Mart % media ± DE |
|----------------------|---|
| C12:0 Láurico | 0,01 ± 0,01 |
| C13:0 Tridecanoico | 0,10 ± 0,06 |
| C14:0 Mirístico | 0,09 ± 0,05 |
| C15:0 Pentadecanoico | 0,27 ± 0,08 |
| C16:0 Palmítico | 18,12 ± 5,58 |
| C16:1 Palmitoleico | 0,89 ± 0,37 |
| C17:0 Margárico | 0,06 ± 0,01 |
| C17:1 Heptadecanoico | 0,07 ± 0,01 |
| C18:0 Esteárico | 1,74 ± 0,79 |
| C18:1 Oleico | 72,69 ± 5,39 |
| C18:1 cis-Vaccenico | 2,28 ± 0,66 |
| C18:2 Linoleico | 1,93 ± 0,43 |
| C18:3 Linolénico | 0,79 ± 0,19 |
| C20:0 Araquídico | 0,07 ± 0,02 |
| C20:1 Eicosenoico | 0,11 ± 0,01 |
| Otros | 0,65 ± 0,13 |

El contenido de ácido oleico se encuentra en mayor concentración seguido del ácido palmítico, ambos representan aproximadamente el 90% del total de ácidos grasos, siendo comparable al aceite de oliva y de girasol.

Tabla 2. Contenido en constituyentes menores y composición de esteroides del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” ¹⁰

| Contenido menores | de constituyentes (mg/Kg) | Composición de esteroides (%) | |
|----------------------|------------------------------|----------------------------------|------|
| Esteroides | 368 | B-sitosterol | 34,2 |
| B-caroteno | 2,38 | Avenasterol | 27,8 |
| Alfa-tocoferol | 1704 | Estigmasterol | 19,2 |
| Gamma tocotrienol | 269 | Campesterol | 7,2 |
| Cicloartenol | 105 | Campestanol | 6,0 |
| | | Colesterol | 3,4 |
| | | No identificado | 2,2 |

La fracción esterolica del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” es particularmente rica en avenasterol y es relativamente pobre en campesterol, estas características pueden servir como marcadores para la autenticación del aceite ¹⁰.

En la tabla 3 se muestran los resultados de los ensayos de calidad y pureza del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” realizados en el laboratorio Certificaciones y Calidad S.A.C. de Lima.

Tabla 3.- Ensayos de calidad y pureza realizados en el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

| Ensayos realizados | Resultados |
|--|------------|
| Índice de acidez (expresado en ácido oleico) (%) | 1,13 |
| Índice de peróxidos (meq O ₂ /Kg) | 11,09 |
| Humedad (%) | 0,2 |
| Aceites minerales | Ausencia |
| Residuos de pesticidas organoclorados | Ausencia |
| Residuos de pesticidas organofosforados | Ausencia |
| Arsénico (Limite de detección: 0,02 mg/Kg) | < 0.02 |
| Cobre Limite de detección 0,002 mg/Kg | < 0.002 |
| Hierro (Limite de detección 0,20 mg/Kg) | < 0.2 |
| Plomo (Limite de detección 0,02 mg/Kg) | < 0.011 |

El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” tiene un gran potencial como una nueva fuente de ácidos monoinsaturados, siendo el principal el ácido oleico, el cual tiene un valor nutricional sustancial, ya que una alta ingesta de ácidos grasos monoinsaturados es considerado un factor dietario para la disminución del colesterol y la incidencia de enfermedades coronarias e hipertensión. Sin embargo, el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” es pobre en ácido linoleico y alfa linolénico, comparado con el valor recomendado

de 12 y 2% respectivamente. La fracción esterólica del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” es particularmente rica en Avenasterol que ha sido reportada de tener actividad antioxidante. El contenido de carotenoides es ligeramente mayor que el aceite de girasol, de soya y de maní (0,1 a 0,3 mg/Kg) y ligeramente menor que el aceite de oliva (6,9 mg/Kg). Los lípidos del mesocarpio de esta palma son particularmente ricos en tocoferoles, aproximadamente 1700 mg/Kg, el tocoferol que presenta en mayor proporción es el alfa-tocoferol (86%), siendo el alfa tocoferol la isoforma con mayor actividad de la vitamina E ¹⁰.

2.1.6 Extracción del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”

La extracción del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” está sujeta a diversas costumbres y tradiciones culturales de las comunidades indígenas. Generalmente se realiza mediante el proceso de extracción artesanal ¹⁴.

El aceite también se puede separar de la pulpa hervida utilizando una prensa artesanal, con una eficiencia de 35%. La FAO tiene el diseño de una planta piloto de bajo costo para industrialización en pequeña escala, que permitiría tener una eficiencia de 85 a 89%. La limitación en este caso está dada por la escasez de materia prima para procesar ⁷.



Figura 6. Método artesanal de extracción de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”: despulpado¹⁴

2.1.7 Investigación etnobotánica, etnofarmacológica y farmacológica

La pulpa del fruto maduro es comestible, diluido en agua, se utiliza tradicionalmente, en la preparación de bebidas no alcohólicas "chapo" (Perú) y "vino" (Brasil); la leche obtenida por maceración de la pulpa contiene proteína comparable a la animal y superior a la mayoría de los granos y leguminosas; el valor biológico de esta proteína es similar al de la caseína. La "leche" del ungurahui es comparable a la humana en su contenido de grasa, proteínas y carbohidratos y su poder calórico proporciona el 55,3% de calorías de los aceites, el 7,41% de proteína y el 37,3% de carbohidratos. Por otro lado en los análisis realizados a esta palma no se han encontrado evidencias de que posea materiales tóxicos. También se utiliza en la preparación de jugos, helados y dulces. El aceite de ungurahui también se emplea en el tratamiento de la tuberculosis y otras enfermedades pulmonares. Posee propiedades curativas en la limpieza del aparato respiratorio y se le atribuyen las siguientes propiedades: descongestionante, emoliente, expectorante, tónico, nutritivo, suavizante. También se le reconoce por las siguientes funciones y usos principales: elimina toxinas, alivia la tos; es estimulante de los pulmones, relaja los bronquios, disminuye el asma; estimula los movimientos intestinales, remueve irregularidades, estimula el colon ⁵⁻⁷.

Sin embargo, el valor principal del ungurahui, es el aceite comestible contenido en la pulpa, que tiene buen valor alimenticio comparable en apariencia y composición de ácidos grasos al aceite de oliva. El aceite no se daña o enrancia fácilmente, y tiene varios usos, en la cocina, para conservar la carne, y como combustible para dar iluminación ^{5,7}.

Las raíces y el palmito son utilizados para la elaboración de un extracto utilizado como tratamiento contra la hepatitis, la fiebre y la malaria; un extracto de las raíces es usado contra la fiebre amarilla y pulmonía; la bebida obtenida de la cocción de los frutos es utilizada contra la malaria, dolor de estómago y afecciones respiratorias; las semillas son usadas para tratar casos de diarrea,

es empleada medicinalmente para tratar enfermedades en 15 diferentes categorías ^{1,19}.

Las raíces adventicias son apreciadas por los indígenas Huaorani del Ecuador como antidiarreicas, antidisentéricas y vermífugas; también son útiles en las jaquecas y los trastornos estomacales. Las hojas son utilizadas para fabricar canastas, catarijanas, algunas veces para techos (son impermeables y dejan pasar el humo) o hacer escobas y para realizar divisiones en las viviendas o demarcar las áreas familiares ^{6,7,9}.

En la Amazonía ecuatoriana se emplea contra la caída del cabello y la caspa; en la Amazonía colombiana se preparan lavados "para fortalecer el cabello", alimenta y beneficia la piel. Para la calvicie se frota el cuero cabelludo con el aceite. Tradicionalmente, ha sido empleado por las comunidades amazónicas como tónico en el tratamiento de caída del cabello ^{2,5,6,7}.

Los troncos en estado de descomposición, se usan como criaderos de nutritivas larvas de "Suri" (*Rhynchophorus palmarum*), que suministran proteína en la alimentación del poblador rural. También los troncos son utilizados para la construcción de casas debido a su gran resistencia (como armazón de la casa o para vigas) o para fabricar los arcos, flechas y mazos de combate. En el Perú los troncos se usan como bases "horcones", para construir viviendas ^{1,6,9}.

El palmito de *Oenocarpus bataua* Mart "ungurahui", es de calidad superior, de los peciolos se preparan dardos y de los tallos se confeccionan puntas de flechas y arcos ⁹.

2.1.8 Aplicación cosmética

Debido a su alto contenido en ácido oleico, el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart "ungurahui" presenta propiedades hidratantes, pudiendo ser empleado en

el cuidado de la piel y cabellos. Puede ser empleado en la elaboración de jabones y cremas hidratantes. También puede emplearse en formulaciones de productos anticaspa y revitalizantes para el cabello ².

2.2. Composición química y propiedades de los aceites vegetales

Los componentes de los aceites vegetales se clasifican en mayoritarios y minoritarios. Entre los primeros se encuentran los acilglicerol, exclusivamente y todos los restantes podrían agruparse en el segundo grupo ²⁰.

Los acilglicéridos o acilglicerol son ésteres de ácidos grasos con glicerol. En las grasas de la dieta se incluyen todos los lípidos que se encuentran en tejidos animales y vegetales y que se ingieren como alimento. Los aceites (líquidos) más comunes son los glicerolípido, los cuales se componen fundamentalmente de triglicéridos. Los ácidos grasos constituyen los principales componentes de estos lípidos y son necesarios en la nutrición humana como fuente de energía y para cumplir con funciones de carácter metabólico y/o estructural. Los ácidos grasos de la dieta más comunes han sido subdivididos en tres grupos según el grado de insaturación: los ácidos grasos saturados, los ácidos grasos monoinsaturados y los ácidos grasos poliinsaturados ²¹.

En la naturaleza existen más de un centenar de ácidos grasos monoinsaturados, pero la mayoría son componentes poco comunes. El ácido oleico (OA) es el más común y está presente en cantidades considerables en fuentes tanto de origen animal como vegetal ^{21,22}.

Asimismo, en la actualidad existe un gran interés por los aceites vírgenes por la presencia de componentes minoritarios como biofenoles, tocoferoles, tocotrienoles y fitoesterol y otros componentes bioactivos como flavonoides y ácidos fenólicos que exhiben beneficios potenciales para la salud. Durante la refinación química y física de los aceites comestibles, muchos de los componentes minoritarios son removidos con el propósito de producir un aceite

con unas características determinadas de color, olor, y sabor que los convierten en productos más adecuados para su comercialización masiva. Sin embargo, esos componentes minoritarios han adquirido una gran importancia desde el punto de vista nutricional, lo que hace que el consumo de aceites vírgenes pueda constituirse en una alternativa al uso de los aceites refinados, debido al interés creciente de los consumidores por prevenir enfermedades y mantener una buena salud a través de una dieta adecuada ^{23,24}.

Los tocoferoles derivados de la vitamina E, son antioxidantes naturales solubles en lípidos que solo son producidos por las plantas. El término general “Vitamina E” se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles y tocotrienoles (α , β , γ y δ). Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlos, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades ^{25,26}.

El α -tocoferol que es la principal forma de la vitamina E, actúa rompiendo las reacciones en cadena durante la peroxidación de los lípidos, también actúa en la neutralización de especies de oxígeno reactivo como por ejemplo el oxígeno singlete. Se considera que sirve como la primera línea de defensa de la peroxidación de los lípidos. Por otro lado, este compuesto también exhibe una acción antiinflamatoria por inhibición de la producción de radicales libre o superóxidos en los neutrófilos activados ²⁵.

El aceite de germen de trigo destaca por su elevado contenido en tocoferoles, principalmente en el isomero α -tocoferol; lo que lo convierte en un producto muy apreciado en el mundo de la cosmética por su elevado poder antioxidante. En otros aceites vegetales como en el de oliva resalta el contenido de α -tocoferol; al igual que en el aceite de girasol; mientras que en los aceites de soya, maíz y sésamo predomina el γ -tocoferol que contribuye en la disminución del contenido de lípidos en la sangre, reduciendo los niveles de colesterol. Asimismo, el aceite de ungurahui es rico en tocoferoles, predominando el α -tocoferol ^{10,25}.

Los fitoesteroles y fitoestanoles son los miembros más importantes del grupo de esteroides y terpenos cuya estructura es semejante al colesterol de origen animal. Estas moléculas no son sintetizadas por el ser humano, derivan exclusivamente de productos de origen vegetal. Los fitoesteroides son particularmente abundantes en el reino vegetal: están presentes en los frutos, semillas, hojas y tallos de prácticamente todos los vegetales conocidos, así como también en aceite de germen de maíz y trigo, girasol, soja, nueces y otros. También están presentes en el aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui”. Mas de 100 tipos diferentes de fitoesteroides han sido encontrados en las plantas, siendo los más abundantes el β -sitosterol, estigmasterol y campesterol, mientras que en menor proporción está el brasicasterol, campestanol y el avenasterol ²⁴.

Se considera que los fitoesteroides y fitoestanoles al ser análogos del colesterol, compiten con él por los sitios de absorción intestinal, por los cuales tienen una mayor afinidad, reduciendo la absorción del colesterol ²⁷, por ello, su consumo se ha asociado con la disminución del riesgo de enfermedades del corazón, también se ha reconocido que poseen propiedades inmunomoduladores que podrían ser benéficas para la prevención del cáncer del colon, cáncer de mama y daño tisular asociado a inflamación. El grupo de los terpenos incluye hormonas (giberelinas y ácido abscísico), pigmentos carotenoides (carotenos y xantófilas), esteroides (ergosterol, sitosterol, colesterol), derivados de esteroides (glicósidos cardiacos), látex y aceites esenciales que proporcionan el olor y el sabor característico de las plantas ²⁸.

Los biofenoles son un grupo de sustancias químicas que se encuentran en las plantas. Las investigaciones sugieren que los polifenoles son antioxidantes naturales que incluyen a los fenoles ácidos y flavonoides. Existen muchas familias de polifenoles presentes en los aceites vírgenes, dentro de los mas citados se encuentran los ácidos fenólicos como el ácido cafeico, el ácido clorogénico, el ácido ferúlico, el ácido cumárico y ácido gálico ²⁵. Existe una gran variedad de fenoles ácidos distribuidos en productos de origen vegetal con

efectos beneficiosos a la salud. Ellos pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y desarrollo de tumores y cáncer. Los fenoles ácidos como los ácidos: cumárico, cafeico y ferúlico, inhiben la actividad de agentes mutágenos, estimulan la actividad de la enzima fenolsulfotransferas implicada en la detoxificación de compuestos metabólicos y poseen actividad bactericida²⁹.

Los flavonoides son compuestos fenólicos de la familia de los fitoquímicos, derivados de los vegetales y con potencial beneficioso sobre la salud, constituyen el grupo mas amplio de los fenoles naturales. La amplia gama de efectos atribuidos a los flavonoides constituye la expresión de la funcionalidad de su grupo químico, incluyendo propiedades redox, mutagénicas, anticarcinogénicas y citotóxicas³⁰.

Otros de los componentes minoritarios de los aceites son los pigmentos vegetales, los que se pueden clasificar en cuatro grandes grupos, dos liposolubles: clorofilas y carotenoides, y dos hidrosolubles: las betalaínas y los flavonoides. Los carotenos son compuestos liposolubles fuertemente coloreados (rojos, anaranjados, amarillos) en formato de α -caroteno, β -caroteno y γ -caroteno, presentes en vegetales como, la zanahoria, la calabaza etc. El aceite de ungurahui contiene β -caroteno. Los β -carotenos son considerados pro-vitaminas porque se pueden convertir en Vitamina A activas. La Vitamina A sirve para varias funciones biológicas, entre las que se incluye la participación en la síntesis de ciertas glico-proteínas. Los carotenos también son efectivos antirradicalarios por sus propiedades antioxidantes. El betacaroteno, al igual que los cientos de antioxidantes que existen en los alimentos, neutraliza los temidos radicales libres, responsables del envejecimiento. Además, son beneficiosos en la prevención de ciertos tipos de trastornos oculares y vasculares^{10,31}.

2.3. Actividad antioxidante

2.3.1 Radicales libres

Se considera radical libre (RL) a aquella molécula que en su estructura atómica presenta al menos un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración que genera una alta inestabilidad. Su tendencia natural a ceder ese electrón o adquirir uno con el que pueda parearlo lo hace sumamente reactivo. Una vez generados los radicales libres aparean rápidamente el electrón desapareado uniéndose a otro radical libre, o cediendo o tomando un electrón de una estructura molecular adyacente no radicalaria, con el fin de estabilizarse. Su misión es la de remover el electrón que les hace falta de las moléculas que están a su alrededor para obtener su estabilidad. La molécula atacada que perdió un electrón, se convierte entonces en un radical libre y de esta manera se inicia una reacción en cadena que dañará muchas células y puede ser indefinida si los antioxidantes no intervienen ^{3,32}.

Entre los radicales libres, por su importancia se encuentran algunas especies reactivas del oxígeno (ERO) y los lipoperóxidos. En la molécula de oxígeno se conocen las siguientes especies reactivas:

O_2 Anión súper óxido.

H_2O_2 Peróxido de Hidrógeno.

OH radical hidróxido.

1O_2 Oxígeno singulete.

Por su parte, los lipoperóxidos o peróxidos lipídicos ($R-COO\cdot$) son moléculas de ácidos grasos en las que el grupo hidroxilo de la formación carboxilo se halla en un estado de singlete activado, confiriéndole propiedades de radical libre. La

agresión de estas especies reactivas (tanto las del oxígeno como los lipoperóxidos) en las biomembranas constituye la esencia del daño en el estrés oxidativo, porque desestabiliza la estructura y función de la célula y sus organelos, debido a que puede constituir causa, en unos casos, y consecuencia en otros de la activación de señalizaciones para la autodestrucción de membranas y muerte celular (apoptosis), ya que la célula no podrá cumplir sus funciones como el intercambio de nutrientes y descartar los materiales de desecho celular, haciendo imposible el proceso de regeneración y reproducción celular ^{3,32,33}.

2.3.2 Estrés oxidativo: papel en el envejecimiento y patologías

En la vida de los organismos aerobios, es decir, aquellos que usan el oxígeno como medio para conseguir energía, existe el peligro de que la presencia de radicales libres supere las defensas antioxidantes. Esta situación se denomina estrés oxidativo y se relaciona con diferentes enfermedades así como con el envejecimiento. Esta situación puede deberse a un aporte insuficiente en la dieta de antioxidantes, a una producción excesiva de radicales libres durante el metabolismo de fármacos, o por una activación excesiva del sistema celular ³.

Los radicales libres pueden encontrarse en el interior o en el exterior de las células o incluso diseminados por todo el organismo, manteniendo actividad biológica al oxidarse, dañando principalmente el tejido conjuntivo, proteínas, enzimas, lípidos, membranas celulares, fibras de colágeno, ADN y ARN, entre otros; y su acción también la pueden ejercer sobre los leucocitos favoreciendo su activación anómala, por lo cual están implicados en la producción de enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares ³³.

2.4 Sistemas de defensa antioxidante

Los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares ³.

2.4.1 Reacciones enzimáticas de la defensa antioxidante

Las enzimas más importantes que participan en la defensa antioxidante son las hidroperoxidasas, la glutatión peroxidasa (GP) y la superóxido dismutasa (SOD). Estas hemoproteínas catalíticas son el producto evolutivo devenido con la necesidad de la asimilación del oxígeno por parte de los organismos eucariontes. Otras enzimas involucradas en el consumo de oxígeno son las piridín y flavo deshidrogenasas del ciclo de Krebs, así como las hemoenzimas del transporte electrónico (citocromos). La acumulación de peróxido de hidrógeno es fuente de radicales libres. *Las hidroperoxidasas* lo eliminan (así como a los lipoperóxidos) mediante la reducción irreversible. Este grupo general de enzimas se subdivide en dos subgrupos: las peroxidasas y la catalasa ³².

2.4.2 Mecanismo de acción y clasificación de los antioxidantes

El mecanismo de acción de los antioxidantes puede ser:

- a) preventivo, evitando la formación de radicales libres (ceruloplasmina, transferrina, albúmina, ferritina).

- b) reparador, mediante la reparación endógena del daño causado por los radicales libres (SOD, GP, catalasa).

c) secuestrador de radicales libres (vitamina E, vitamina C, betacaroteno, flavonoides) ³⁴.

Los antioxidantes se clasifican en enzimáticos o no enzimáticos. Se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta) ³.

Tabla 4. Clasificación de antioxidantes ³:

| Exógenos | Endógenos |
|-----------------|---|
| Vitamina E | Glutación. Coenzima Q |
| Vitamina C | Acido tióctico |
| Betacaroteno | Enzimáticos. Cofactor |
| Flavonoides | Superoxidodismutasa (SOD), cobre, manganeso, zinc, Catalasa, hierro |
| Licopeno | Glutationperoxidasa(GP),selenio |

Entre los antioxidantes derivados de la dieta, los que tienen mayor repercusión sobre la piel son: alfa-tocoferol, carotenoides y ácido ascórbico, que actúa como cofactor de diferentes enzimas. Los niveles de antioxidantes en la piel son mayores en zonas fotoexpuestas ³⁴.

Tabla 5.- Antioxidantes enzimáticos ³⁵

| Antioxidante | Ubicación celular | Función fisiológica |
|----------------------|---|---|
| Superoxido dismutasa | Citoplasma (SOD-1) Mitocondria (SOD-2) Extracelular (SOD-3) | Dismutación de radicales superóxido. |
| Glutation peroxidasa | Citoplasma y mitocondria | Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos |
| Catalasa | Citoplasma y mitocondria | Elimina el peróxido de hidrógeno. |

2.5. Métodos de evaluación de la actividad antioxidante

Existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante in vitro o in vivo, que se basan en la capacidad de captar radicales libres, entre ellos el uso del 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), ácido 2,2',azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS), la reacción con el óxido nitroso (test NO), diclorhidrato de N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD), poder antioxidante reductor férrico (FRAP), por generación de radicales superóxido: a) en leucocitos de rata. b) autooxidación de pirogallol c) sistema hipoxantina/xantina oxidasa, Sistema NADH-FENAZINA METOSULFATO-O₂-Azul de nitrotetrazolio : generación de radical hidroxilo: sistema H₂O₂-Fe + 3-EDTA Ascorbato, entre otros ³⁶⁻⁴¹.

La medida de la capacidad antioxidante en productos alimenticios es una determinación que puede proveer una variada información como: la resistencia a la oxidación, contribución cuantitativa de sustancias antioxidantes o la

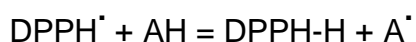
actividad antioxidante que pueden presentar en el organismo al consumirse ⁴¹. Numerosos estudios han evaluado la capacidad antioxidante de los productos alimenticios, sin embargo no existe un método oficial estandarizado y por lo tanto se recomienda que cada evaluación se realice con diferentes condiciones de oxidación y métodos de medida ³⁸.

2.5.1 Reacción con el radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH')

Las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas in vitro, como el método del DPPH, son aproximaciones de lo que ocurre en situaciones complejas in vivo. Este método presenta una excelente estabilidad en ciertas condiciones por presentar un radical libre que puede obtenerse directamente sin preparación previa, mientras que otros, como el ABTS se generan tras una reacción química, enzimática o electroquímica ^{39,40}.

Brand-Williams *et al* (1995) ⁴² desarrolló este método, que consiste en determinar la capacidad de captura del radical libre DPPH por parte de los compuestos antioxidantes. Este radical tiene un electrón desapareado y presenta coloración azul violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante, produciendo disminución de la absorbancia proporcional a la concentración y actividad del antioxidante.

El DPPH es un radical libre, que posee un electrón desapareado en el átomo de nitrógeno, y puede reducirse por acción de un átomo de hidrógeno donado por el antioxidante con la reacción siguiente:



AH: Antioxidante

La reducción del DPPH[•] se sigue con el monitoreo del decrecimiento en su absorbancia a una longitud de onda que puede variar entre 515 y 520 nm dependiendo de las condiciones de trabajo. La técnica involucra una serie de ensayos dirigidos al estudio de la cinética de reacción entre los agentes antioxidantes y el DPPH[•] a diferentes concentraciones, donde el medio de reacción debe garantizar la solubilización total del reactivo y las muestras, debido a que éste puede afectar de manera significativa los resultados ⁴³.

2.6 Ensayos de irritación dérmica aguda/corrosión

En la evaluación de las características tóxicas de una sustancia, es útil la determinación de la toxicidad aguda de la piel cuando es probable la exposición por vía cutánea.

En el campo de la toxicología experimental, la toxicidad aguda incluye el test de irritabilidad dérmica descrito por Draize, en 1944, esta prueba brinda información sobre los efectos adversos observables a partir de una exposición a corto plazo por vía cutánea y ofrece datos de toxicidad inicial para fines de regulación, calificación, clasificación, transportación y estudios posteriores de toxicidad crónica y subcrónica dérmica del producto ⁴⁴.

2.6.1 Consideraciones generales para realizar el ensayo de irritabilidad dérmica

Los ensayos *in vivo* no deben realizarse hasta que todos los datos relevantes del potencial dérmico de corrosividad/irritación de la sustancia a ensayar hayan sido evaluados. Estos datos incluyen evidencia de estudios existentes en humanos y/o en animales de laboratorio, evidencia de corrosividad/irritación de una o más sustancias relacionadas estructuralmente o mezclas de tales sustancias, datos que demuestran una fuerte acidez o alcalinidad de la sustancia, y resultados de ensayos validados y aceptados *in vitro* o *ex vivo*.

Este análisis debe reducir la necesidad de ensayos de corrosividad/irritación *in vivo* de sustancias para las que existe suficiente evidencia de otros estudios. Si la determinación de corrosividad/irritación no puede ser realizada usando el análisis del peso de la evidencia, debe considerarse un ensayo *in vivo* ⁴⁵.

2.6.2 Principios del ensayo *in vivo*

La sustancia a ensayar se aplica en una sola dosis a la piel del animal de experimentación, las áreas de piel no tratadas del animal de ensayo sirven como control. El grado de irritación/corrosión es leído y anotado en intervalos específicos y descritos adicionalmente para proporcionar una evaluación completa de los efectos. La duración del estudio debe ser suficiente para evaluar la reversibilidad o irreversibilidad de las observaciones. Los animales que muestren continuamente signos de distress severo y/o dolor en algún estadio del ensayo deben ser sacrificados y la sustancia evaluada ⁴⁵.

2.6.3 Capacidad irritante dérmica

Se define como efecto irritante a la producción de cambios reversibles sobre la piel, después de la aplicación de una sustancia de ensayo durante un máximo de 4 horas ^{45,46}.

No debe evaluarse con compuestos clasificados como corrosivos sobre la piel o los ojos, ya que se sobreentiende que son efectos mas potentes. Los efectos tanto dérmicos como oculares se evalúan en conejos, comenzando siempre por los dérmicos. El ensayo se debe realizar en conejos albinos, adultos y sanos, con un número aconsejado de tres por lote. Las condiciones de mantenimiento son las mismas para todos los estudios de toxicidad ⁴⁶.

2.6.4. Capacidad corrosiva

El efecto corrosivo de una sustancia conduce a la destrucción irreversible de los tejidos después de su aplicación, necrosis visible a través de la epidermis y dentro de la dermis, luego de la aplicación de una sustancia de ensayo durante un máximo de 4 horas. Las reacciones de corrosión son tipificadas como úlceras, sangrado, costras sanguinolentas, y, al concluir la observación por 14 días, por decoloración (palidez de la piel), áreas completas de alopecia, y cicatrices. La histopatología debe considerarse para evaluar lesiones cuestionables⁴⁵.

La Unión Europea y la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD) recomiendan seguir un protocolo jerarquizado para detectar corrosivos o irritantes severos sobre ojos y piel. Tras considerar las propiedades fisicoquímicas, el pH y el resultado de ensayos *in vitro* validados, los compuestos pueden ser clasificados directamente como irritantes severos sin llegar a ensayarse en animales. Sólo cuando no han resultado irritantes *in vitro*, puede incluirse el ensayo *in vivo*. En primer lugar, las sustancias fuertemente alcalinas ($\text{pH} \geq 11,5$) o ácidas ($\text{pH} \leq 2$), no deben someterse a estudios cutáneos porque se clasifican como corrosivas. La inclusión de un sistema predictivo que relaciona la estructura actividad en la primera etapa, simplifica el procedimiento⁴⁶.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Lugar de ejecución

- Laboratorio de Química Analítica y Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica CENPROFARMA-UNMSM.
- Centro de Información, Control Toxicológico y Apoyo a la Gestión Ambiental-CICOTOX de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM.

3.1.2 Materiales, equipos y reactivos

3.1.2.1 Materiales

- Tubos de ensayo
- Fiolas de 10 y 25 mL
- Micro pipetas de 1000 y 100 μ L
- Gasa estéril
- Esparadrapo antialérgico
- Jeringa de plástico de 3 mL
- Plumón marcador de vidrio
- Cronómetro

3.1.2.2 Reactivos

- 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH)
- Alfa tocoferol acetato (Vitamina E)
- Cloroformo grado HPLC
- Agua destilada
- Solución salina fisiológica

Los reactivos utilizados fueron de grado analítico, de las marcas Merck y Sigma Chemical Company.

3.1.2.3 Material biológico

- Aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”
- 03 conejos albinos

3.1.2.4 Equipos

- Espectrofotómetro Helios Zeta UV-VIS Thermo scientific
- Balanza Analítica

3.1.3 Métodos

3.1.3.1 Recolección de la muestra vegetal

Los frutos de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se recolectaron entre los meses de junio a setiembre del 2013 en el Caserío Bello Horizonte –Distrito de Curimaná, Provincia San Alejandro-Pucalpa-Ucayali.

3.1.3.2. Procesamiento y extracción del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”

La extracción del aceite se realizó a través del método artesanal, en coordinación con la empresa Pebani Inversiones S.A.C. de Lima. Se seleccionaron solo los frutos sanos y maduros, los que se lavaron con agua limpia eliminando las impurezas por frotación manual. Se pesaron 23 kilos de la fruta seleccionada, los que se colocaron en tinas de plástico, agregando agua hasta sumergir completamente los frutos y dejándolos en remojo por un período de 10 horas. Pasado este tiempo, se dieron ligeros golpes a la fruta con un bate de madera, agregando agua y separando luego la pulpa de la corteza y de la semilla, amasando manualmente. Con la ayuda de un cernidor metálico se separó la semilla y la corteza del jugo de pulpa. El jugo de pulpa cernido se colocó en una olla grande, calentándolo a una temperatura no mayor de 130 °C por un período de 60 minutos, controlando que la temperatura se mantenga para evitar el deterioro o quemado del aceite, que se caracteriza por la presencia de un olor a humo. Transcurridos los 60 minutos, se observó el aceite sobrenadante en la superficie de la solución o jugo de pulpa, el cual se recogió con una jarra de plástico y se colocó en un recipiente plástico para su reposo. Luego, el aceite obtenido se hizo pasar por una tela de nylon para separar impurezas o restos de la pulpa, permaneciendo en un recipiente plástico. De los 23 kilos de frutos, se obtuvieron 506 mL de aceite, correspondiendo a un rendimiento de 2,2 % v/p. El aceite es de color amarillo transparente.

3.1.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”

La actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se determinó usando el ensayo del radical DPPH, basado en el método propuesto

por Brand-Williams *et al* ⁴³. El fundamento del método consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 517 nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres.

3.1.3.3.1. Procedimiento

1.-Se preparó una solución de DPPH en cloroformo de 20 mg/L (se pesó 2 mg de DPPH y se llevó a fiola de 10 mL con cloroformo, de allí se tomó 2.5 mL y se llevó a fiola de 25 mL con cloroformo).

2.- Luego se prepararon soluciones de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “*ungurahui*” en cloroformo en concentraciones de 6%,8%,10% y 12%.

3.-El blanco se preparó con cloroformo para ajustar el espectrofotómetro a cero.

4.-El blanco de muestra se preparó con 0.75 mL de muestra (de cada solución de muestra problema: 6, 8, 10 y 12%) y 1.5 mL de cloroformo.

5.-Se preparó el patrón de referencia con 1.5 mL de DPPH y 0.75 mL de cloroformo.

6.- Luego se procedió a preparar las muestras con 0.75 mL de solución (de cada una de las concentraciones de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “*ungurahui*” en cloroformo de 6, 8, 10 y 12%, correspondientes a los tubos 1, 2, 3, 4 y 1.5 mL de DPPH, dejándose reposar por 5 minutos en oscuridad, y se realizó la lectura a 517 nm en el espectrofotómetro UV.VIS.



Figura 7. Preparación de la solución de DPPH en cloroformo.

7.- Se midieron también las absorbancias del patrón de referencia y del blanco de muestra.



Figura 8. Pesaje del aceite para la preparación de soluciones de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart "ungurahui"



Figura 9. Preparación de soluciones de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” en cloroformo al 6, 8 y 10%.



Figura 10. Lectura de las muestras en el espectrofotómetro.

Tabla 6. Preparación de los tubos para su lectura en el espectrofotómetro

| Tubos | B | BM 1 | BM 2 | BM 3 | BM 4 | PR | C | T1 | T2 | T3 | T4 |
|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) | (mL) |
| Cloroformo | x | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 0,75 | | - | - | - | - |
| MP 6% | | 0,75 | - | - | - | - | - | 0,75 | - | - | - |
| MP 8% | | - | 0,75 | - | - | - | - | - | 0,75 | - | - |
| MP10% | | - | - | 0,75 | - | - | - | - | - | 0,75 | - |
| MP12% | | - | - | - | 0,75 | - | - | - | - | - | 0,75 |
| DPPH | | - | - | - | - | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Sol. Vit.E | | - | - | - | - | - | 0,75 | - | - | - | - |
| Reposo en oscuridad por 5 minutos | | | | | | | | | | | |

Leyenda: MP: Muestra problema PR: Patrón de referencia BM: Blanco de muestra T:Tubo C: Control.

El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “*ungurahui*” fue evaluado por triplicado, a las diferentes concentraciones de 6, 8, 10 y 12 %, utilizando como control la vitamina E al 6% (se pesó 0.6 gramos de vitamina E y se llevó a fiola de 10 mL con cloroformo), 8% y 10%.

Para preparar el control se tomó 0.75 mL de solución de vitamina E y se agregó 1.5 mL de DPPH.

Posteriormente con los valores de las absorbancias obtenidas se determinó el % de captación de radicales libres (DPPH) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Capacidad antioxidante} = \{1 - (A_2 - A_3) / A_1\} \times 100$$

% Captación de radical libre

Donde:

A1= Absorbancia del patrón de referencia

A2=Absorbancia de la muestra

A3=Absorbancia del blanco de muestra ³⁷.

3.1.3.4 Evaluación de irritabilidad dérmica:

El ensayo de irritabilidad dérmica se llevó a cabo en conejos, con la técnica descrita en la guía de la OECD 404 (*OECD Guidelines for testing of chemicals*) ⁴⁵.

3.1.3.4.1 Procedimiento

3.1.3.4.1.1 Selección de especies animales

Para este ensayo se emplearon 3 conejos albinos hembras sanos, procedentes del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos (bioterio), de la cepa Nueva Zelanda. Dichos conejos tuvieron un peso corporal entre 2,018-2,124 Kg, con un peso promedio de 2,071 Kg y una edad promedio de 2 meses.

3.1.3.4.1.2 Preparación de los animales

Aproximadamente 24 horas antes de iniciar el ensayo, la piel de los conejos fue depilada a ambos lados de la columna vertebral, teniendo cuidado que no se

erosione la piel, sólo aquellos animales con la piel intacta y saludable fueron utilizados.



Figura 11 . Preparación de los conejos: depilación de la piel a ambos lados de la columna vertebral.

3.1.3.4.1.3 Alojamiento y alimentación

Los conejos fueron alojados de manera individual, se mantuvieron en aclimatación con agua y alimento balanceado *ad libitum*, con un ciclo luz/oscuridad 12 x 12 horas (12 horas de luz artificial y 12 horas de oscuridad), en una temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 30%.



Figura 12. Alojamiento individual y alimentacion de los conejos.

3.1.3.4.1.4 Aplicación de la sustancia de ensayo

La sustancia de ensayo fue aplicada en una pequeña área de la piel (aproximadamente 6 cm²), la cual fue cubierta con parche de gasa estéril y fijado con esparadrapo hipoalergénico (de 2 a 4 cm).

3.1.3.4.1.5 Dosis

Posteriormente se seleccionaron los sitios de piel adecuados para el estudio y una dosis de 0.5 mL de aceite fue aplicado en el área de ensayo.



Figura 13. Administración del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” sobre la piel del conejo.



Figura 14. Aplicación de parche de gasa estéril sobre la piel del conejo.



Figura 15. Fijación del parche de gasa estéril con esparadrapo hipoalergénico.

El aceite se mantuvo expuesto en el sitio de la piel cubierto con parche de gasa estéril y fijado con esparadrapo durante 4 horas.



Figura 16. Permanencia del conejo por 4 horas en contacto con el parche conteniendo aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

Al retirarse los parches se lavó la zona de aplicación con solución salina fisiológica.



Figura 17. Retiro de parches luego de 4 horas y lavado con solución salina.

3.1.3.4.1.6 Periodo de observación

Inmediatamente después de retirado el parche, se examinaron a los conejos para signos de eritema o edema, luego a los 60 minutos y a las 24, 48 y 72 horas, registrando las reacciones dérmicas observadas, de acuerdo a la siguiente tabla descrita en la guía de la OECD 404 (OECD *Guidelines for testing of chemicals*):

Tabla 7. Escala de graduación de reacciones cutáneas ⁴⁵ :Formación de eritema y escaras

| | |
|--|---|
| No presencia de eritema..... | 0 |
| Eritema muy ligero (apenas perceptible)..... | 1 |
| Eritema bien definido..... | 2 |
| Eritema moderado a severo..... | 3 |
| Eritema severo (piel rojiza) con formación de úlceras y costras..... | 4 |

Máximo posible: 4

Formación de edema

| | |
|--|---|
| No hay edema..... | 0 |
| Edema muy ligero (apenas perceptible)..... | 1 |
| Edema ligero (bordes o áreas bien definidas por elevación de la piel)..... | 2 |
| Edema moderado (área elevada de aproximadamente 1 mm)..... | 3 |
| Edema severo (elevación de más de 1 mm que se extiende más allá del área de exposición)..... | 4 |

Máximo posible: 4

Examen histopatológico puede realizarse para aclarar respuestas equívocas.

IV. RESULTADOS

4.1. Resultados del ensayo de determinación de la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

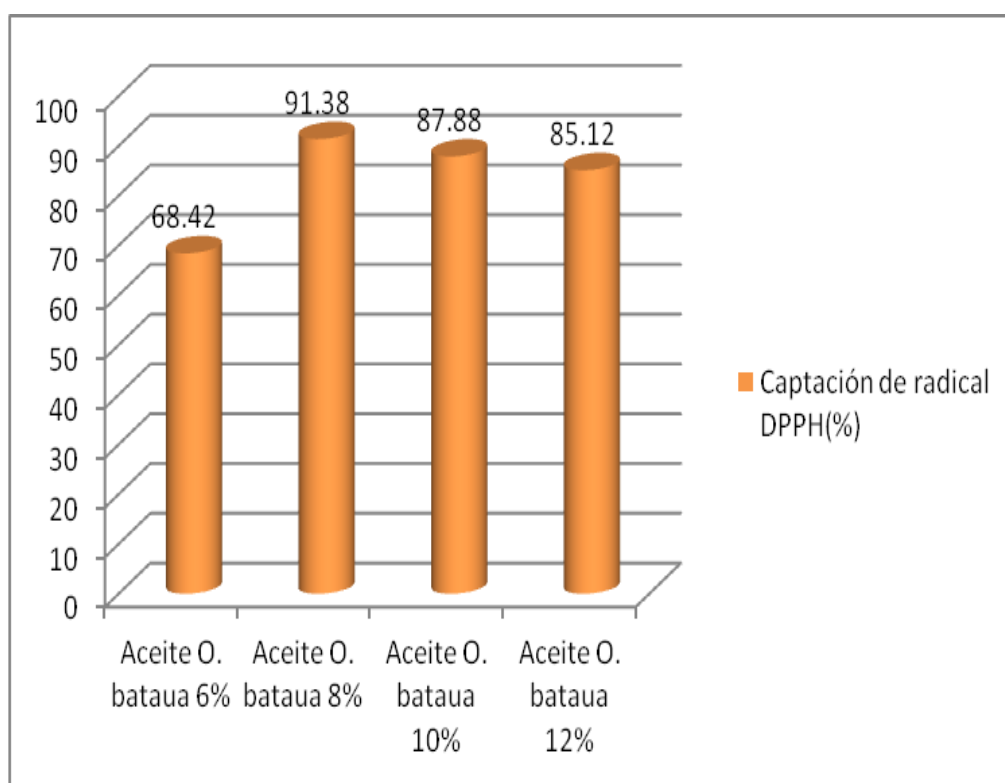


Figura 18. Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” obtenida a las diferentes concentraciones de 6%, 8%, 10% y 12%.

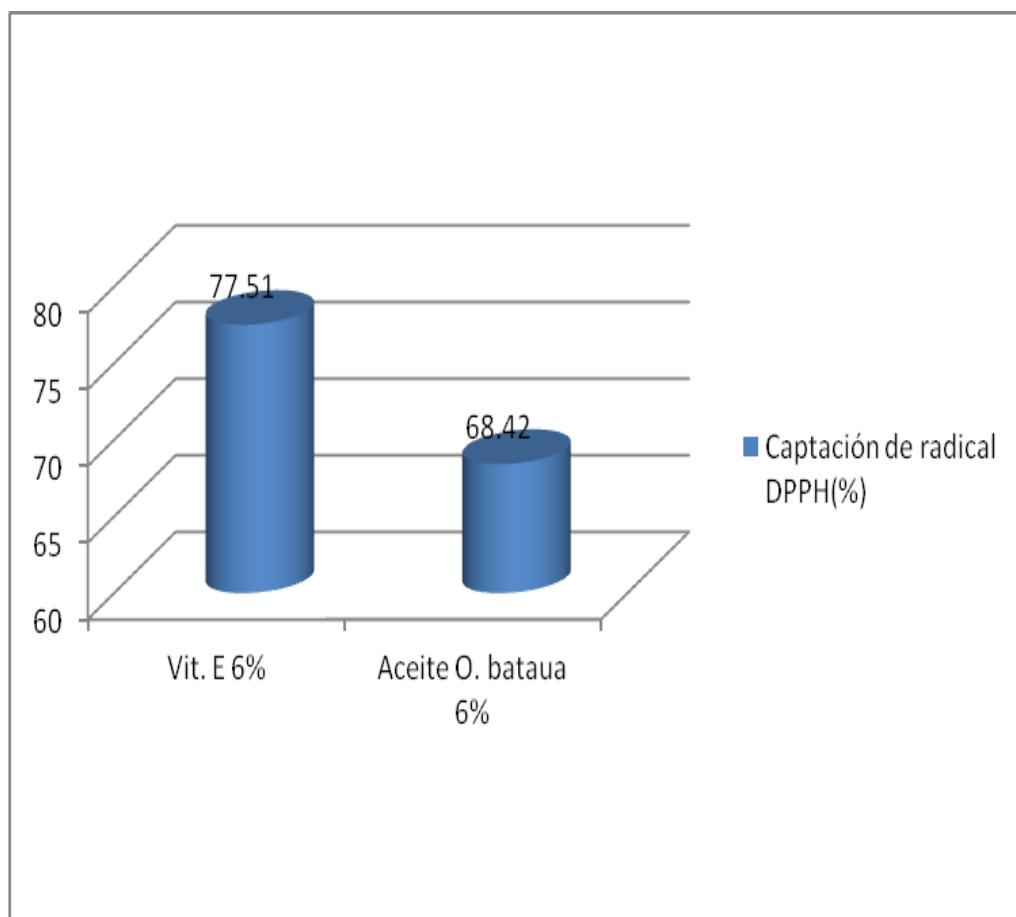


Figura 19. Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” al 6% comparada con la vitamina E.

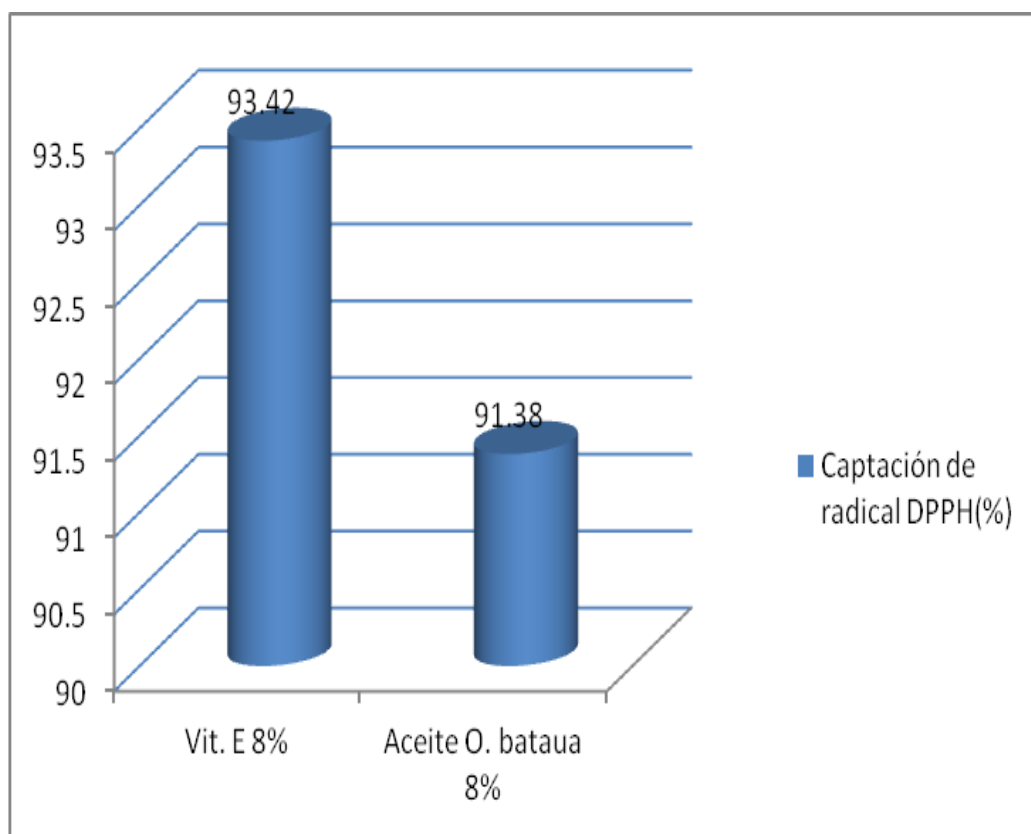


Figura 20. Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” al 8% comparada con la vitamina E.

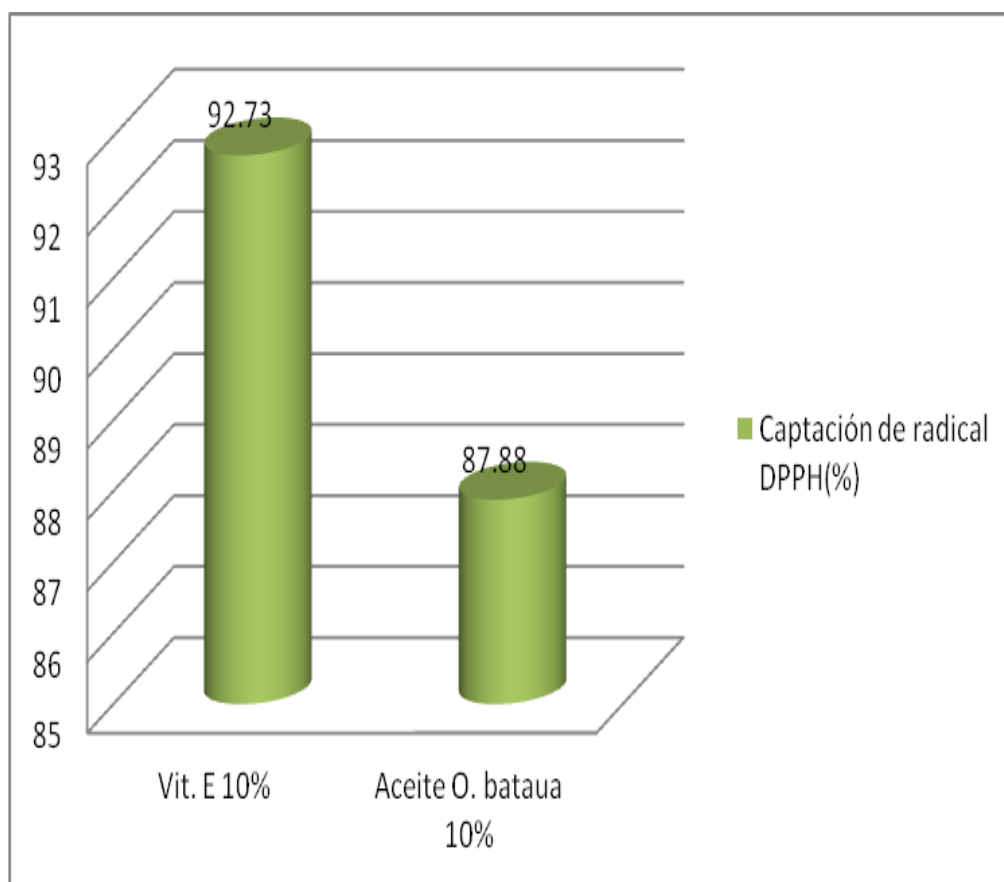


Figura 21. Capacidad de captación de radical DPPH del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” al 10% comparada con la vitamina E.

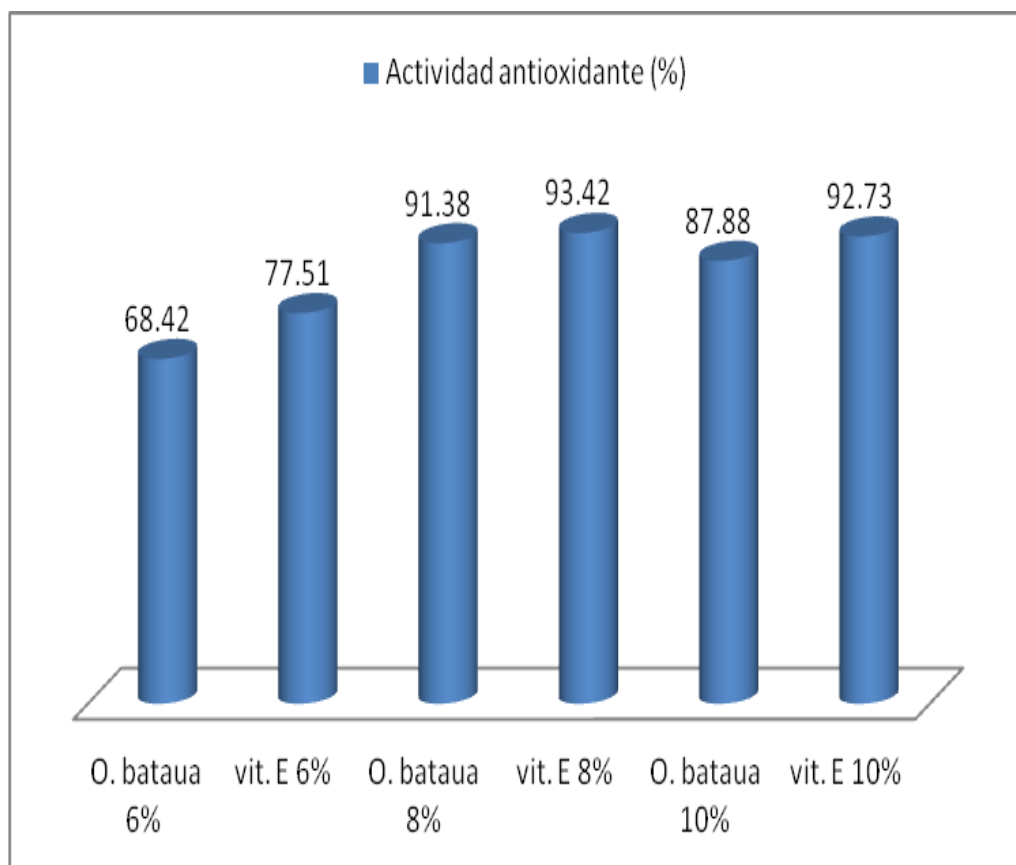


Figura 22. Comparación de la actividad antioxidante por concentraciones del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” y la vitamina E frente al DPPH.

4.2. Resultados del ensayo de irritabilidad dérmica del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”

Inmediatamente después de retirado el parche, se examinó la piel de los conejos para signos de eritema o edema. No se observaron alteraciones en las evaluaciones efectuadas después de haber quitado el parche.



Figura 23. Examinación de la piel del conejo para signos de eritema y edema inmediatamente de retirado el parche.

Los conejos fueron examinados a los 60 minutos y 24, 48 y 72 horas de retirarse los parches, no se observó alteraciones en el lugar de aplicación en ninguno de los conejos del ensayo, asignándose un valor de índice de irritación de 0, lo que cataloga al aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” como no irritante para la piel.

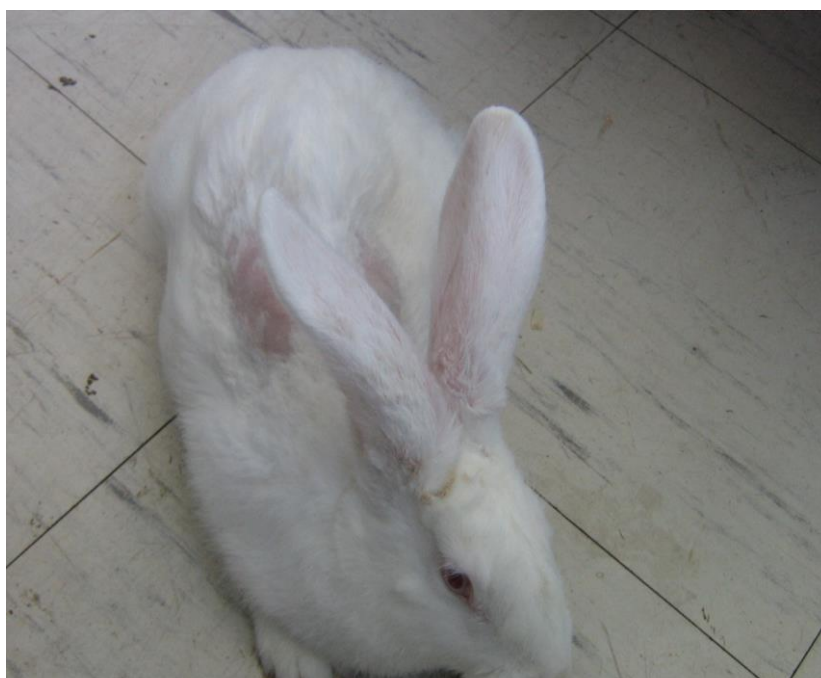


Figura 24. Observación de la piel del conejo: no presenta signos de eritema y edema a las 72 horas de retirado el parche.

Tabla 8. Resultados del ensayo de irritación dérmica con aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”.

| Reacciones dérmicas observadas | Tiempo de observación (luego de retirado el parche) | | | | | Índice de irritabilidad primaria |
|--------------------------------------|--|--------|-------------|-------------|-------------|--|
| | | | | | | |
| | 0 hora | 1 hora | 24 horas | 48 horas | 72 horas | |
| Eritema y formación de escaras | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Formación de edema | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

No se observaron otros signos clínicos en los animales sometidos al ensayo.
No fue necesaria la toma de muestras de piel para el estudio histopatológico.

V. DISCUSIÓN

Actualmente, la investigación sobre sustancias antioxidantes ha llegado a ser un tópico científico importante en diferentes aspectos ya sea alimenticio, farmacéutico y cosmético. El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” es poco conocido científicamente con respecto a sus propiedades antioxidantes ¹⁷.

En el presente trabajo, al evaluar la capacidad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” se observa que éste fue activo en decolorar el DPPH desde 68.42% hasta 91.38% en un rango de concentración de 6 a 12%, mostrando mayor actividad atrapadora en la concentración de 8%, como se muestra en la figura 18.

En las figuras 19, 20, 21 y 22, los valores obtenidos de capacidad de captación de radical DPPH del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”, no fueron significativamente inferiores respecto a la vitamina E usada como estándar, para la cual la actividad antioxidante alcanzó valores de 77.51 hasta 93.42 % de capacidad de captación del radical DPPH en un rango de concentración de 6 a 10%. Demostrándose que el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” presenta actividad antioxidante en el modelo del radical DPPH comparado con la vitamina E.

En la figura 18, observamos también que la mayor actividad atrapadora se presenta en la concentración del aceite al 8% y que a concentraciones mayores de 10 y 12%, la actividad antioxidante disminuye, esto podría explicarse porque el contenido de carotenos del aceite, correlaciona

negativamente con la capacidad antioxidante, es decir a mayor contenido de carotenos la capacidad antioxidante disminuye ⁴⁰. Dado que algunos antioxidantes pueden causar interferencias si poseen un espectro de absorción similar al del DPPH, como es el caso de los carotenoides, por ello es necesario conocer la cantidad de carotenoides en los aceites ⁴⁷.

Basándose también en el modelo del DPPH y en el ensayo del β -caroteno, en un estudio se evaluó la actividad antioxidante de los aceites de *Bactris gasipaes* “chonta”, *Mauritia Flexuosa* L.f. “aguaje”, *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” y *Plukenetia volubilis* L. “sacha inchi”, demostrándose que el aceite de ungurahui posee actividad antioxidante, dado que en el ensayo del DPPH para los aceites fijos diluidos en dimetilsulfóxido, el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” tuvo la mayor actividad antioxidante expresada en IC50 (400.8 mg/L). Con el ensayo del β -caroteno, el aceite de sacha Inchi presentó el mayor porcentaje de actividad antiradical seguido del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” ⁴⁸.

La capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él. De acuerdo a los estudios realizados, la capacidad antioxidante de un aceite vegetal se debe a la actividad antioxidante de sus diferentes compuestos, entre los cuales se encuentran los compuestos fenólicos, tocoferoles, carotenos, antocianinas, ácido ascórbico, terpenoides etc ^{49,50,51}. Cabe precisar que el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” no ha reportado la presencia de ácido ascórbico en su composición ^{10,17}.

En un trabajo de investigación realizado por Navas H. Petra. en el 2010, se determinó la composición de diferentes muestras de aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”, determinándose los compuestos fenólicos: vainillina, ácido cumárico, naringenina, naringina, quercetina, luteolina, ácido cinámico, ácido ferúlico, acetato de tirosil, ácido cafeico, sin embargo, los resultados mostraron que los componentes bioactivos diferían de manera importante entre las muestras de aceite, lo cual estaría relacionado con los diferentes procesos

artesanales de extracción y la zona de cultivo de las plantas. El alfa tocoferol fue el único isómero presente en todas las muestras analizadas con concentraciones de 76.1 y 103 mg/Kg y se determinaron también en todas las muestras carotenoides en concentraciones de 9.3 a 13.5 mg/Kg ⁵². Asimismo, en el trabajo realizado por Antonio Da Cruz y col, se determinó en el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” un contenido de alfa tocoferol de 56.5 ± 2.9 ug/g ¹⁸.

Asimismo, en un estudio realizado sobre la actividad antioxidante de otra especie del género *Oenocarpus*: *Oenocarpus bacaba*, se determinó la capacidad antioxidante por los métodos ORAC (194,67 μ M Trolox.g-1), DPPH (47,46 g pulpa.g-1DPPH) y β -caroteno/ácido linoléico (92,17 % I.O), concluyéndose que la actividad antioxidante estaría relacionada con los mayores contenidos de compuestos bioactivos, especialmente los polifenoles extraíbles totales ⁴⁷. Siendo los compuestos fenólicos los mayores responsables para la actividad antioxidante en frutos ^{39,43}.

Otro estudio que data del año 2014, evaluó la capacidad antioxidante de la pulpa del fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” comparándola con el fruto de *Euterpe oleracea* “acaí” por varios métodos, basados en diferentes parámetros (mecanismos, sustratos, radicales), a fin de obtener una mejor conclusión. El extracto de la pulpa del fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” mostró una mayor actividad antioxidante por el método TEAC y FRAP en comparación al acaí, tuvo una actividad antioxidante equivalente con el ensayo de DPPH y mostró un contenido equivalente de fenoles totales. Comparado a las bayas conocidas como potencialmente ricas en antioxidantes, el fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” muestra una alta actividad y aparece como un “super fruto”. Se halló también que *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” tiene una composición polifenólica original con presencia significativa de estilbenos, ácidos cafeolquínicos (predominando el ácido clorogénico), derivados del ácido hidroxibenzoico y procianidinas que no han sido reportadas en otras especies del género *Oenocarpus*. Este estudio concluyó que el fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” posee una

interesante actividad antioxidante química y biológica in vitro y que la razón de esta actividad antioxidante sería debido a su contenido polifenólico y de vitaminas, por la presencia de algunos otros polifenoles como estilbenos, ácidos fenólicos, y taninos condensados cuya cuantificación es muy alta ¹⁷.

Por lo que la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” encontrada al realizar el ensayo, se debería a la presencia de compuestos fenólicos, vitamina E y caroteno principalmente, los que le confieren algún potencial antioxidante y tendrían un efecto sinérgico entre los compuesto bioactivos que lo conforman, siendo necesario realizar más investigaciones que incluyan elucidación estructural y evaluación de la actividad biológica a fin de incrementar la valorización del fruto de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” para su empleo en el campo cosmético, farmacéutico y de nutrición.

El ensayo de irritabilidad dérmica realizado en conejos empleando la prueba de toxicidad dérmica N° 404 de la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD), demostró que el aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui” no produce irritación, garantizando, dentro del margen de error que siempre trae aparejada la extrapolación del animal al hombre, que los productos farmacéuticos o cosméticos elaborados con este aceite no son potencialmente irritantes en los seres humanos ⁴. Este resultado permite avalar la seguridad del uso cosmético tópico del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”, el cual se viene empleando tradicionalmente en lavados para fortalecer el cabello, contra la caída del cabello, tratamiento de la caspa, y por sus propiedades benéficas para la piel, pudiéndose emplear en la elaboración de cremas, champús, jabones, lociones capilares, entre otros ^{2,6,7,18}.

Asimismo, cabe precisar que no se encontró información de otras investigaciones en torno a la toxicidad dérmica del aceite de *Oenocarpus bataua* Mart “ungurahui”. Los resultados del presente trabajo constituirían un primer referente.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- El aceite de *Oenocarpus bataua* Mart presentó actividad antioxidante en el modelo del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) de 68,42; 91,38; 87,88 y 85,12 % a las concentraciones de 6, 8, 10 y 12 % respectivamente, en comparación con la vitamina E que presentó una actividad antioxidante de 77.51, 93.42 y 92.73 % a las concentraciones de 6, 8 y 10%.
- 2.- En el ensayo de irritabilidad dérmica en piel de conejos, el aceite no resultó irritante, sugiriéndose su uso en la industria cosmética.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Balslev H, Grandez C, Paniagua N, Moller A, Lykke S. Palmas (Arecaceae) útiles en los alrededores de Iquitos, Amazonía Peruana. Rev. peru.biol. 2008; 15 (1):121-32.
- 2.- Pastore F, Fernandes V, Petry AC, Martinez R, Costa E, Ferreira FH. Plantas da Amazonia para Produção Cosmética: uma abordagem química - 60 espécies do extrativismo florestal não-madeireiro da Amazônia. Brasília: Universidad de Brasilia; 2005.
- 3.- Mayor-Oxilia R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. R. Rev. Inst. Med. Trop. 2010; 5(2):23-29.
- 4.- Díaz M, García G, García K, Sánchez Y, Tillan J. Evaluación de la irritabilidad dérmica, oftálmica y el efecto sensibilizante del OLEOZON® tópico. Revista Electrónica de Veterinaria. 2006; 7(11):1-6.
- 5.- Balick MJ. Jessenia y Oenocarpus: palmas aceiteras neotropicales dignas de ser domésticas. Roma: Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación;1992.
- 6.- Brack Egg A. *Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú*. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas; 1999.

- 7.- Díaz J, Ávila L. *Sondeo del mercado mundial de Aceite de Seje (Oenocarpus bataua)*. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt; 2002.
- 8.- Castaño N, Cárdenas D, Otavo E. *Ecología, aprovechamiento y manejo sostenible de nueve especies de plantas del departamento del Amazonas, generadoras de productos maderables y no maderables*. Bogotá: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas; 2007.
- 9.- Secretaría Pro – Tempore. *Cultivo de frutales nativos amazónicos- Manual para el extensionista*. Lima: Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaria Pro – Tempore; 1997.
- 10.- Montufar R, Laffargue A, Pintaud J, Hamon S, Avallone S, Dussert S. *Oenocarpus bataua* Mart, (Arecaceae): Rediscovering a Source of High Oleic Vegetable Oil from Amazonia. *J Am Oil Chem Soc*. 2010; 87(2):167-72.
- 11.-Cifuentes L, Moreno F, Arango D. *Fenología reproductiva y productividad de Oenocarpus bataua (Mart.) en bosques inundables del Choco Biogeográfico*. *Biota Neotrop*. 2010; 10(4):101-10.
- 12.- Villachica H, *Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia*. Lima: Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaria Pro – Tempore; 1996.
- 13.- Spichiger R, Méroz J, Loizeas P, Stuz de Ortega L. *Contribución a la flora de la Amazonia Peruana: los árboles del arboretum Jenaro Herrera*. Vols.1-2. Génova: Conservatoire et jardin botaniques de Genève; 1990.
- 14.- Torres E. *Procesamiento de frutos y extracción artesanal del aceite vegetal de la palmera de ungurahua*. Manual de Buenas Prácticas de Recolección. Macas, Ecuador: Fundación Chankuap; 2013.

- 15.- Cabrera W, Wallace R. Patrones fenológicos de ocho especies de palmeras en un bosque amazónico de Bolivia. *Rev. Bol. Ecol. y Cons. Amb.* 2007; 21:1-18.
- 16.- Darnet H, Meller L, Da Cruz A, Telles R. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. Campinas. 2011; 31(2):488-91.
- 17.- Rezaire A, Robinson J, Bereau D, Verbaere A, Sommerer N, Khan MK *et al.* Amazonian palm *Oenocarpus bataua* ("patawa"): Chemical and biological antioxidant activity-Phytochemical composition. *Food Chemistry*, 2014; 149: 62-70.
- 18.- Da Cruz A, Darnet S, Meller L. Fatty Acid Profiles and Tocopherol contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) Fruits. *J. Braz. Chem. Soc.* 2010; 21(10): 2000-4.
- 19.- Sosnowska J, Balslev H. American palms used for medicine, in the ethnobotanical and pharmacological publications. *Rev.peru.biol.* 2008; 15(1):143-46.
- 20.- Graciani CE. Los Aceites y grasas: Composición y propiedades. Madrid: Mundi-Prensa; 2006.
- 21.- Ackman RG. Fatty acids in fish and shellfish. In: Chow CK. *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*. 3ra ed. Londres: CRC Press; 2008.p.155-85.
- 22.- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Fundación Iberoamericana de Nutrición. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos. Granada: Organización de las Naciones Unidas

para la Alimentación y la Agricultura y Fundación Iberoamericana de Nutrición. 2012.

23.-Drago ME, Lopez M, Sainz T. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2006; 37(4):58-68.

24.- Fernandez P, Cabral JMS. Phytosterols: Applications and recovery methods. Bioresource Technology. 2007; 98: 2335–50.

25.- Kanu PH, Zhu K, Kanu JB, Zhou H, Quian H, Zhu K. Biologically active components and nutraceuticals in sesame and related products: a review and prospect. Food Science & Technology. 2007; 18(12):1-10.

26.- Sayago A, Marín MA, Aparicio R, Morales MT. Vitamina E y aceites vegetales. Grasas y Aceites. 2007; 58(1):74-86.

27.- Ostlund R. Phytosterols, Cholesterol Absorption and Healthy Diets. Lipids. 2007; 42:41-45.

28.- Avalos A, Perez-Urria E. Mecanismo secundario de las plantas. Reduca (Biologia). 2009; 2(3):119-45.

29.- Valente T, Hidalgo J, Bolea I, Ramirez B, Angles N, Reguant J et al. A diet enriched in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, LMN diet, induces neurogenesis in the subventricular zone and hippocampus of adult mouse brain. Journal of Alzheimer's Disease. 2009;18(4):849-65.

30.- Moon YJ, Wang X, Morris ME. Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolismo. Toxicology in Vitro. 2006; 20(2):187–210.

31.- Trumbo PR, Ellwood KC. Lutein and zeaxanthin intakes and risk of age-related macular degeneration and cataracts: an evaluation using the food and

Drug Administration evidence based review system for health claims. Am J Clin Nutr. 2006; 86:971-74.

32.- Benítez D. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. Rev Cubana Invest Biomed. 2006; 25(2):24-27.

33.- Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Rev. Chil. Nutr. 2007; 34 (1):17-26.

34.- De Galvez, MV. Antioxidantes en fotoprotección, ¿realmente funcionan?. Actas Dermosifiliogr. 2010; 101(3):197-200.

35.- López A, Fernando C, Lazarova Z, Bañuelos V, Sánchez S. Revista ANACEM. 2012; 6:49.

36 .- Antolovich M. Methods for testing antioxidant activity. Analyst. 2002; 127:183-98.

37.- Castañeda B, Ramos E, Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Médico. 2008; 8(1):56-72.

38.- Frankel E, Meyer A. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal Science Food Agriculture. 2000; 80:1925 - 41.

39.- Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Mancini J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Technol. Aliment. Campinas. 2005; 25(4):726-32.

40.- Ramos E, Castañeda B, Ibañez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Rev Acad Peru Salud. 2008;15 (1):42-46.

- 41.- Zuleta A, Esteve M, Frígola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*. 2009; 114: 310 - 16.
- 42.- Brand-Willians W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. u.-Technol*. 1995; 25:25-30.
- 43.- Rodríguez J, Salager J, Forgiarini A. Evaluación del poder antioxidante de una microemulsión conteniendo quercetina y aceites esenciales mediante un método optimizado de análisis. *Revista Ciencia e Ingeniería*. 2013; 34(1):45-50.
- 44.- Padol A, Jayakumar K, Shridhar N, Narayana H, Narayana M, Mohan K. Safety Evaluation of Silk Protein Film (A Novel Wound Healing Agent) in Terms of Acute Dermal Toxicity, Acute Dermal Irritation and Skin Sensitization. *Toxicol Int*. 2011;18(1):17-21.
- 45.- OECD. (2002). *Guideline for the Testing of Chemicals*. Recuperado de <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/chemicalstestingdrafttoecdguidelinesforhetestingofchemicals-sections1-5.htm>.
- 46.- Repetto M, Repetto G. *Toxicología Fundamental*. 4a ed. España: Díaz de Santos; 2009.
- 47.- Guedes M. *Qualidade e Potencial Funcional da Porção Comestível e do Oleo de Frutos de Palmeiras Nativas Oriundas do Amapá*. Brasil: Universidade Federal da Paraíba. 2012.
- 48.- Martínez A. Evaluación de la actividad antioxidante de los aceites y de su fracción insaponificable de los frutos de: *Mauritia flexuosa* (Morete), *Bactris gasipaes* (Chonta), *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua) utilizando los métodos DPPH y el test del β -caroteno [Tesis doctoral]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana; 2011.

- 49.- Blazevic I, Mastelic J. Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). *Food Chem.* 2009; 113: 96–102.
- 50.- Perez J, Saura F. Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. En: V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y agroexportaciones. Madrid. 2007.p.1150-60.
- 51.- Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Rev. Soc. Quím. Perú.* 2008; 74(2):108-24.
- 52.- Navas P. Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales [Tesis doctoral]. La Mancha: Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Castilla; 2010.

VIII.- ANEXOS

8.1 DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE:

8.1.1 Medición de la absorbancia del tubo 1 (mp 6%):

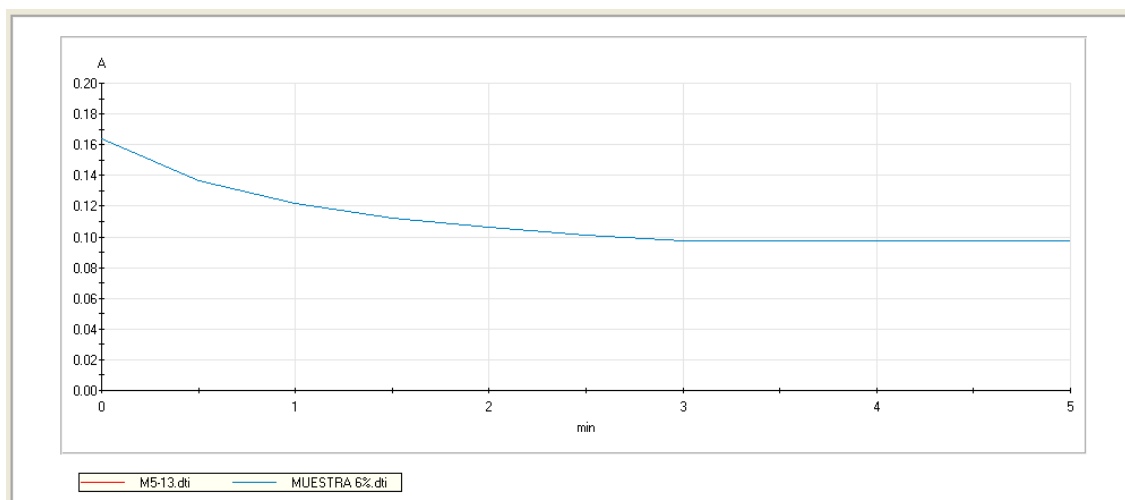
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 01 : 09 : 51 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | M3-13.dti [A] | MUESTRA 6%.dti [A] |
|----|-------|---------------|--------------------|
| 1 | 0.0 | 1.585 | 0.164 |
| 2 | 0.5 | 1.716 | 0.137 |
| 3 | 1.0 | 1.805 | 0.122 |
| 4 | 1.5 | 1.865 | 0.113 |
| 5 | 2.0 | 1.911 | 0.106 |
| 6 | 2.5 | 1.940 | 0.101 |
| 7 | 3.0 | 1.963 | 0.097 |
| 8 | 3.5 | 1.978 | 0.097 |
| 9 | 4.0 | 1.992 | 0.097 |
| 10 | 4.5 | 2.001 | 0.097 |
| 11 | 5.0 | 2.009 | 0.097 |

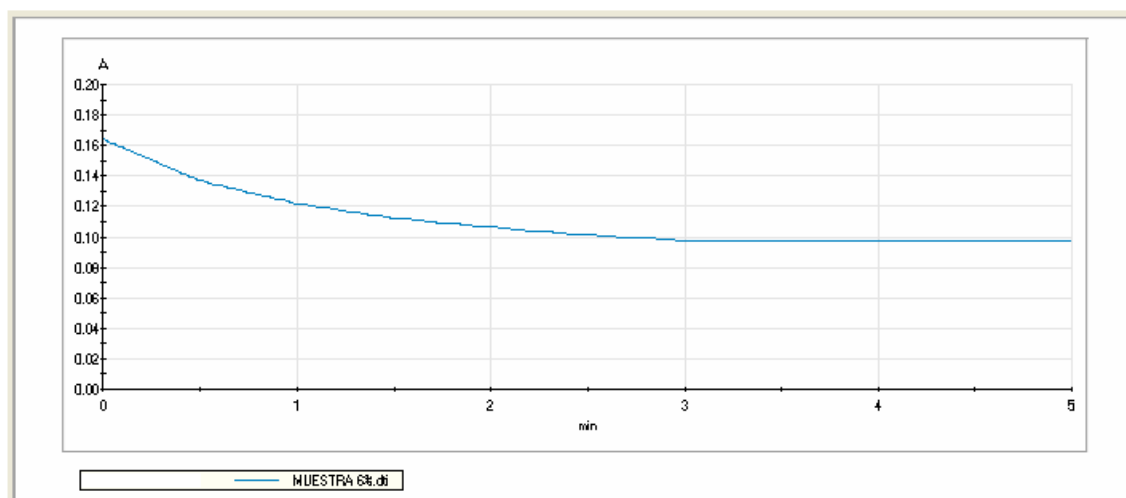
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 01 : 19 : 51 pm

Archivo resultado:



| Nº | [min] | M4-13.dti [A] | MUESTRA 6%.dti [A] |
|----|-------|---------------|--------------------|
| 1 | 0.0 | 1.585 | 0.164 |
| 2 | 0.5 | 1.716 | 0.137 |
| 3 | 1.0 | 1.805 | 0.122 |
| 4 | 1.5 | 1.865 | 0.113 |
| 5 | 2.0 | 1.911 | 0.106 |
| 6 | 2.5 | 1.940 | 0.101 |
| 7 | 3.0 | 1.963 | 0.097 |
| 8 | 3.5 | 1.978 | 0.097 |
| 9 | 4.0 | 1.992 | 0.097 |
| 10 | 4.5 | 2.001 | 0.097 |
| 11 | 5.0 | 2.009 | 0.097 |

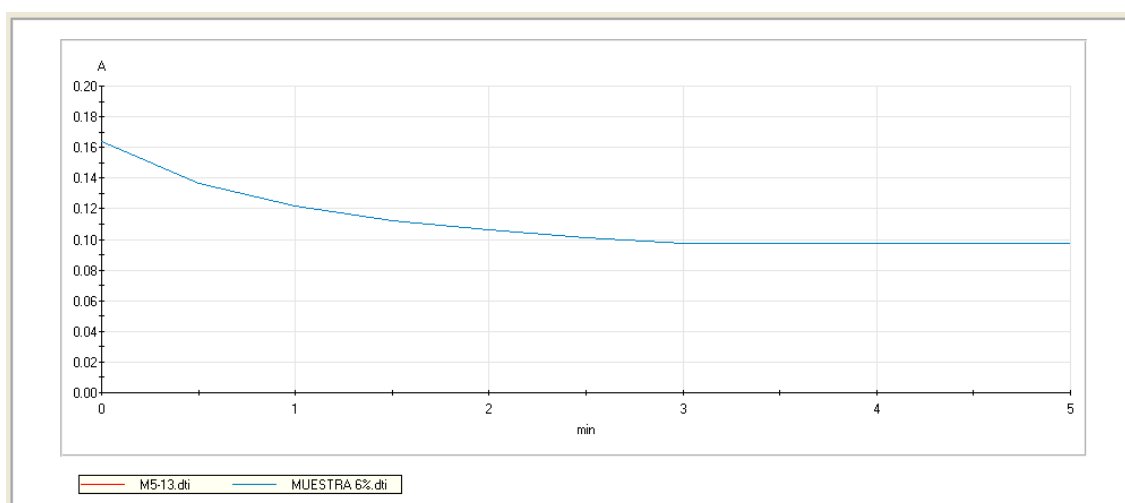
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 01 : 50 : 31 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | M5-13.dti [A] | MUESTRA 6%.dti [A] |
|----|-------|---------------|--------------------|
| 1 | 0.0 | 1.585 | 0.164 |
| 2 | 0.5 | 1.716 | 0.137 |
| 3 | 1.0 | 1.805 | 0.122 |
| 4 | 1.5 | 1.865 | 0.113 |
| 5 | 2.0 | 1.911 | 0.106 |
| 6 | 2.5 | 1.940 | 0.101 |
| 7 | 3.0 | 1.963 | 0.097 |
| 8 | 3.5 | 1.978 | 0.097 |
| 9 | 4.0 | 1.992 | 0.097 |
| 10 | 4.5 | 2.001 | 0.097 |
| 11 | 5.0 | 2.009 | 0.097 |

8.1.1.1 Medición de la absorbancia del Blanco de Muestra Tubo 1:

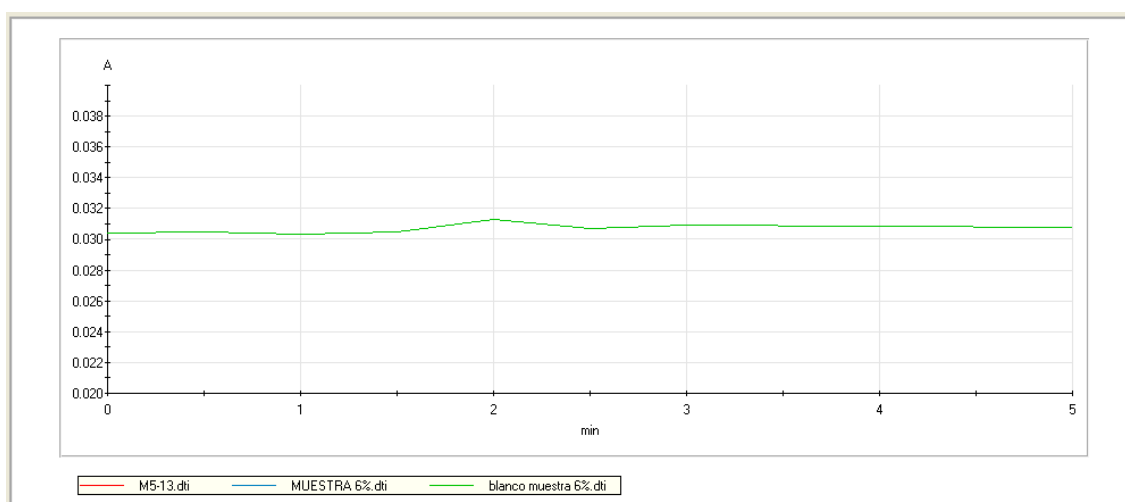
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 01 : 36 : 31 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | M5-13.dti [A] | MUESTRA 6%.dti [A] | blanco muestra 6%.dti [A] |
|----|-------|---------------|--------------------|---------------------------|
| 1 | 0.0 | 1.585 | 0.164 | 0.030 |
| 2 | 0.5 | 1.716 | 0.137 | 0.031 |
| 3 | 1.0 | 1.805 | 0.122 | 0.030 |
| 4 | 1.5 | 1.865 | 0.113 | 0.031 |
| 5 | 2.0 | 1.911 | 0.106 | 0.031 |
| 6 | 2.5 | 1.940 | 0.101 | 0.031 |
| 7 | 3.0 | 1.963 | 0.097 | 0.031 |
| 8 | 3.5 | 1.978 | 0.097 | 0.031 |
| 9 | 4.0 | 1.992 | 0.097 | 0.031 |
| 10 | 4.5 | 2.001 | 0.097 | 0.031 |
| 11 | 5.0 | 2.009 | 0.097 | 0.031 |

8.1.2 Medición de la absorbancia del tubo 2 (mp 8%) y del Blanco de Muestra Tubo 2:

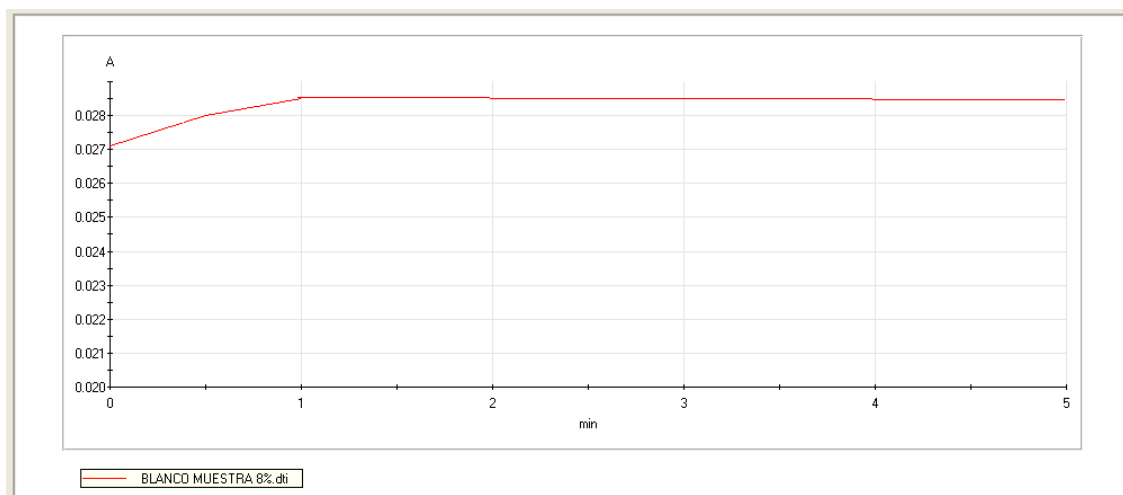
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 12 : 42 : 31 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | BLANCO MUESTRA 8%.dti [A] |
|----|-------|------------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.027 |
| 2 | 0.5 | 0.028 |
| 3 | 1.0 | 0.029 |
| 4 | 1.5 | 0.028 |
| 5 | 2.0 | 0.028 |
| 6 | 2.5 | 0.028 |
| 7 | 3.0 | 0.028 |
| 8 | 3.5 | 0.028 |
| 9 | 4.0 | 0.028 |
| 10 | 4.5 | 0.028 |
| 11 | 5.0 | 0.028 |

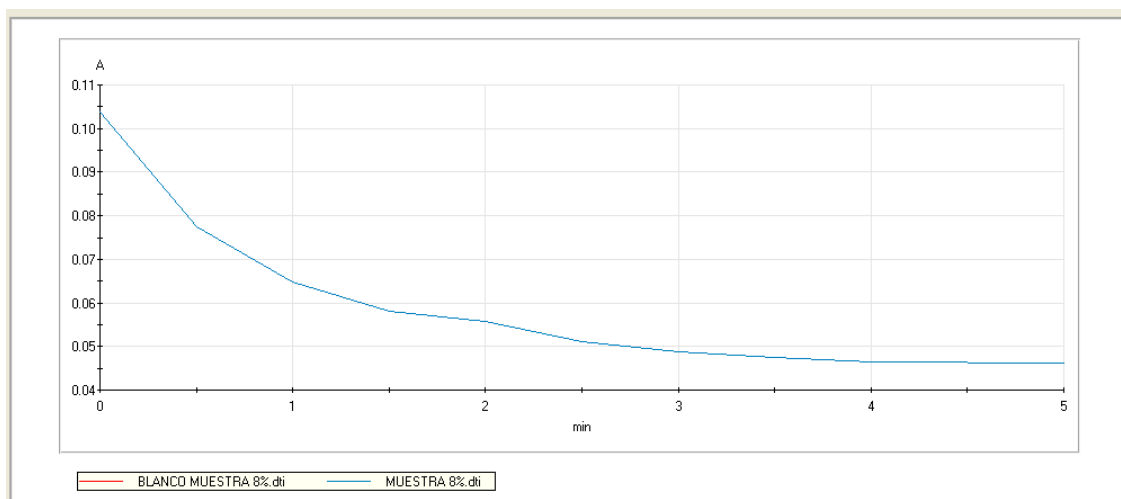
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 12 : 49 : 11 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | BLANCO MUESTRA 8%.dti [A] | MUESTRA 8%.dti [A] |
|----|-------|---------------------------|--------------------|
| 1 | 0.0 | 0.027 | 0.104 |
| 2 | 0.5 | 0.028 | 0.077 |
| 3 | 1.0 | 0.029 | 0.065 |
| 4 | 1.5 | 0.028 | 0.046 |
| 5 | 2.0 | 0.028 | 0.046 |
| 6 | 2.5 | 0.028 | 0.046 |
| 7 | 3.0 | 0.028 | 0.046 |
| 8 | 3.5 | 0.028 | 0.046 |
| 9 | 4.0 | 0.028 | 0.046 |
| 10 | 4.5 | 0.028 | 0.046 |
| 11 | 5.0 | 0.028 | 0.046 |

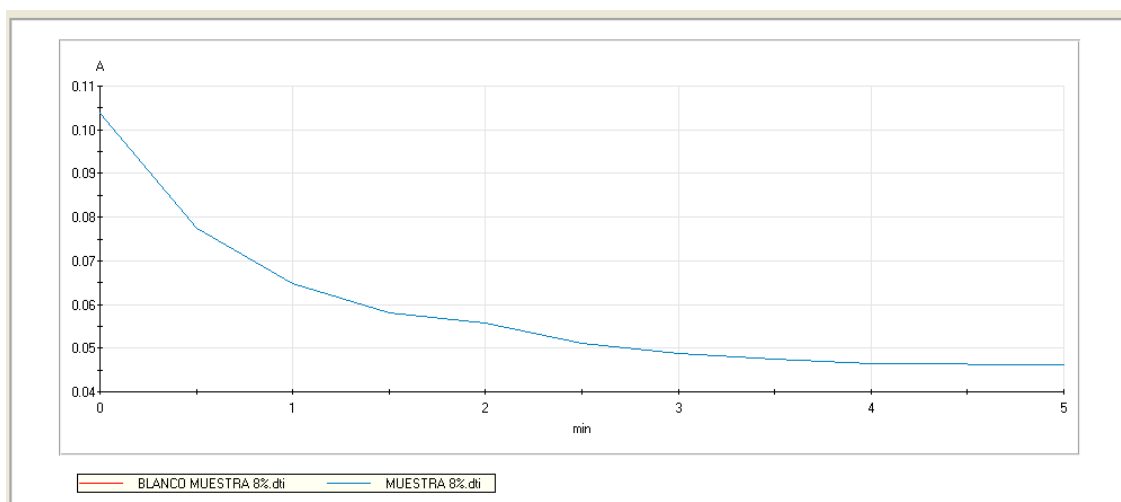
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 12 : 57 : 31 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | BLANCO MUESTRA 8%.dti [A] | MUESTRA 8%.dti [A] |
|----|-------|---------------------------|--------------------|
| 1 | 0.0 | 0.027 | 0.104 |
| 2 | 0.5 | 0.028 | 0.077 |
| 3 | 1.0 | 0.029 | 0.065 |
| 4 | 1.5 | 0.028 | 0.046 |
| 5 | 2.0 | 0.028 | 0.046 |
| 6 | 2.5 | 0.028 | 0.046 |
| 7 | 3.0 | 0.028 | 0.046 |
| 8 | 3.5 | 0.028 | 0.045 |
| 9 | 4.0 | 0.028 | 0.045 |
| 10 | 4.5 | 0.028 | 0.045 |
| 11 | 5.0 | 0.028 | 0.045 |

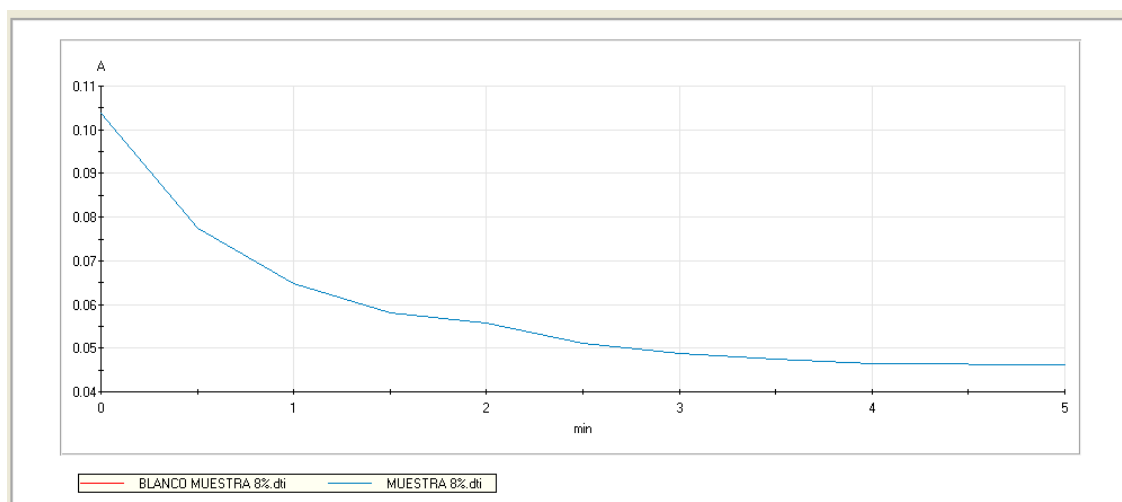
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80

Medida : 29 / 10 / 2013 01 : 06 : 31 pm

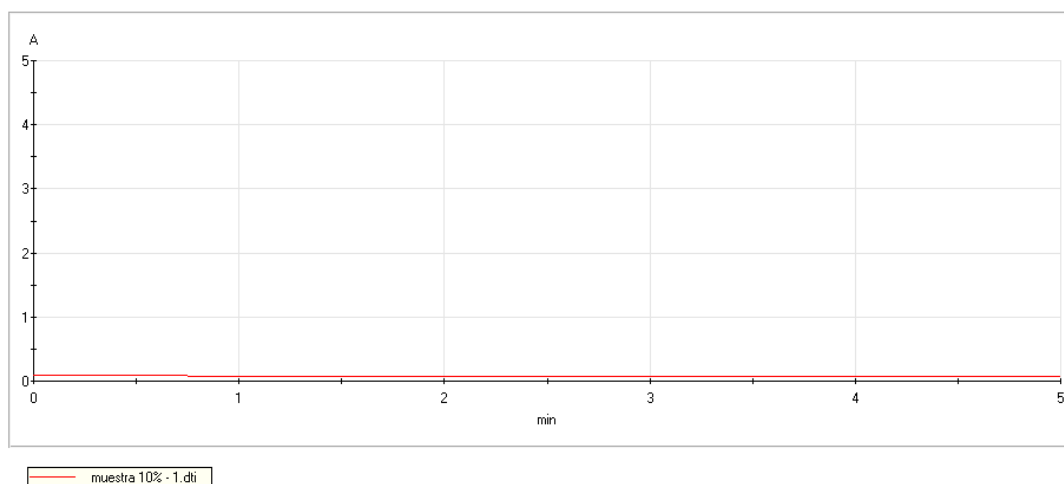
Archivo resultado :



| Nº | [min] | BLANCO MUESTRA 8%.dti [A] | MUESTRA 8%.dti [A] |
|----|-------|------------------------------|-----------------------|
| 1 | 0.0 | 0.027 | 0.104 |
| 2 | 0.5 | 0.028 | 0.077 |
| 3 | 1.0 | 0.029 | 0.065 |
| 4 | 1.5 | 0.028 | 0.046 |
| 5 | 2.0 | 0.028 | 0.046 |
| 6 | 2.5 | 0.028 | 0.046 |
| 7 | 3.0 | 0.028 | 0.046 |
| 8 | 3.5 | 0.028 | 0.046 |
| 9 | 4.0 | 0.028 | 0.046 |
| 10 | 4.5 | 0.028 | 0.046 |
| 11 | 5.0 | 0.028 | 0.046 |

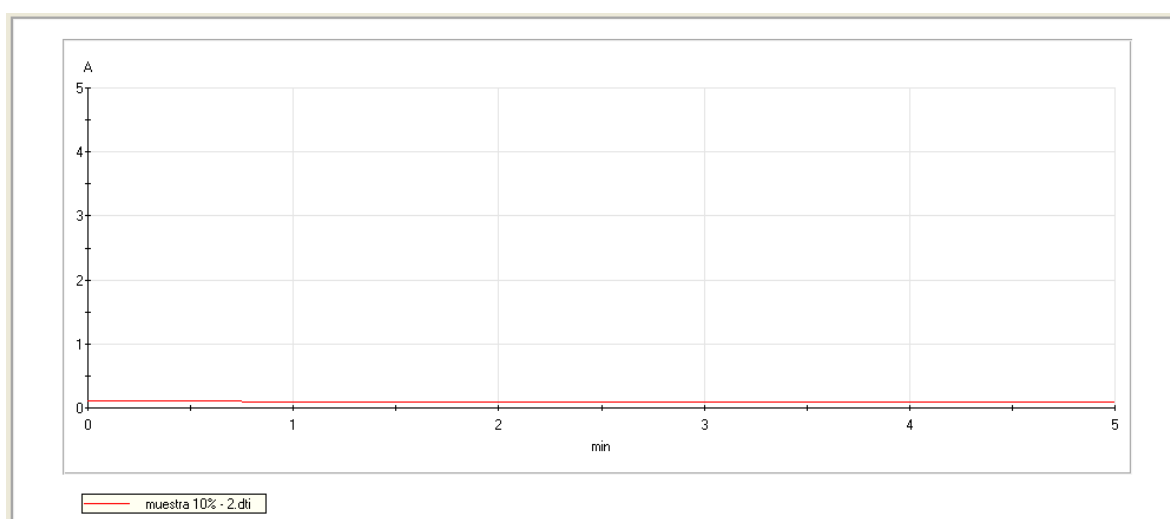
8.1.3 Medición de la absorbancia del tubo 3 (mp 10%)

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 02 : 46 : 31 pm
Archivo resultado :



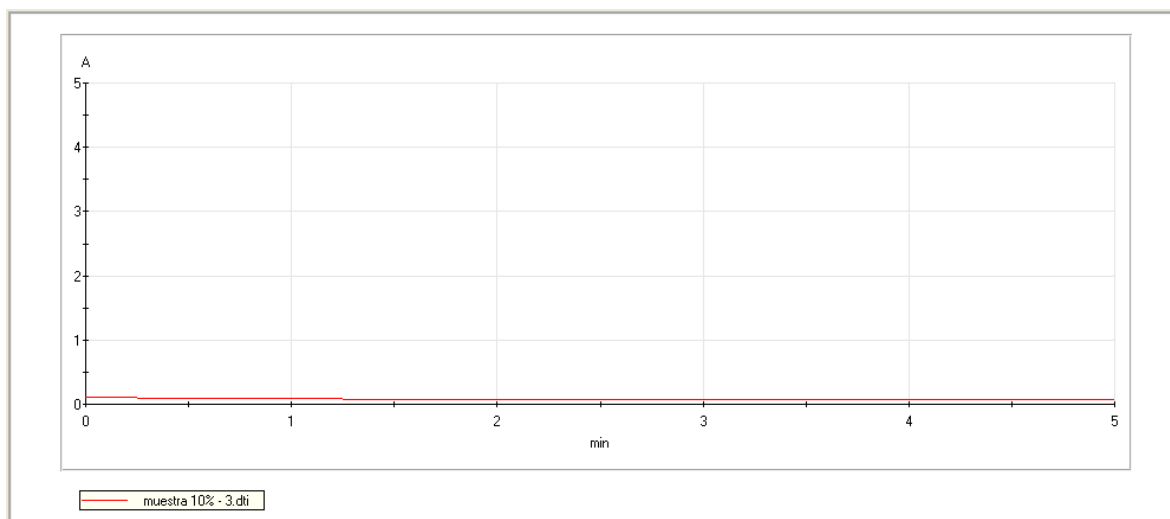
| Nº | [min] | muestra 10% - 1.dti [A] |
|----|-------|-------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.096 |
| 2 | 0.5 | 0.087 |
| 3 | 1.0 | 0.081 |
| 4 | 1.5 | 0.078 |
| 5 | 2.0 | 0.075 |
| 6 | 2.5 | 0.074 |
| 7 | 3.0 | 0.072 |
| 8 | 3.5 | 0.071 |
| 9 | 4.0 | 0.071 |
| 10 | 4.5 | 0.070 |
| 11 | 5.0 | 0.070 |

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 02 : 53 : 51 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | muestra 10% - 2.dti [A] |
|----|-------|-------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.112 |
| 2 | 0.5 | 0.105 |
| 3 | 1.0 | 0.100 |
| 4 | 1.5 | 0.096 |
| 5 | 2.0 | 0.094 |
| 6 | 2.5 | 0.091 |
| 7 | 3.0 | 0.090 |
| 8 | 3.5 | 0.089 |
| 9 | 4.0 | 0.088 |
| 10 | 4.5 | 0.087 |
| 11 | 5.0 | 0.086 |

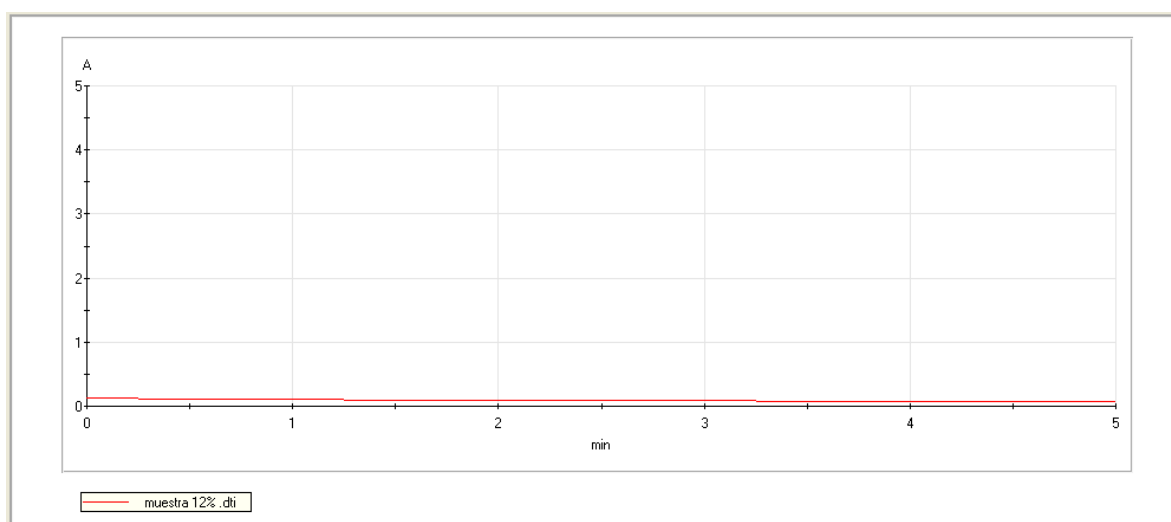
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 03 : 02 : 21 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | muestra 10% - 3.dti [A] |
|----|-------|-------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.116 |
| 2 | 0.5 | 0.098 |
| 3 | 1.0 | 0.088 |
| 4 | 1.5 | 0.080 |
| 5 | 2.0 | 0.076 |
| 6 | 2.5 | 0.073 |
| 7 | 3.0 | 0.071 |
| 8 | 3.5 | 0.070 |
| 9 | 4.0 | 0.069 |
| 10 | 4.5 | 0.069 |
| 11 | 5.0 | 0.069 |

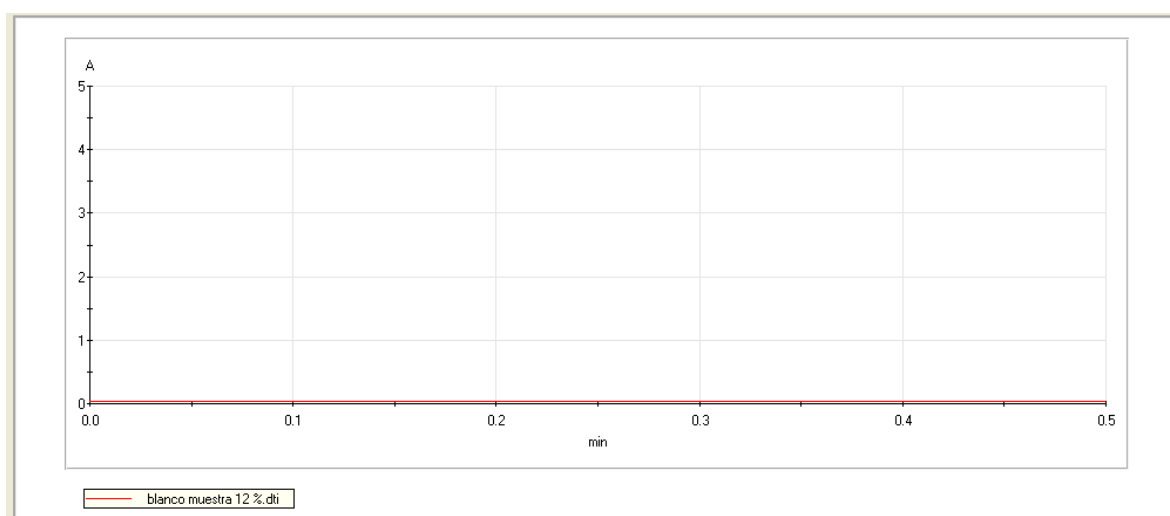
8.1.4 Medición de la absorbancia del tubo 4 (mp 12) y del Blanco de Muestra Tubo 4:

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 03 : 15 : 21 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | muestra 12% .dti [A] |
|----|-------|----------------------|
| 1 | 0.0 | 0.133 |
| 2 | 0.5 | 0.114 |
| 3 | 1.0 | 0.102 |
| 4 | 1.5 | 0.094 |
| 5 | 2.0 | 0.090 |
| 6 | 2.5 | 0.087 |
| 7 | 3.0 | 0.085 |
| 8 | 3.5 | 0.083 |
| 9 | 4.0 | 0.082 |
| 10 | 4.5 | 0.082 |
| 11 | 5.0 | 0.081 |

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 04 : 15 : 22 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | blanco muestra 12 %.dti [A] |
|----|-------|-----------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.038 |
| 2 | 0.5 | 0.038 |

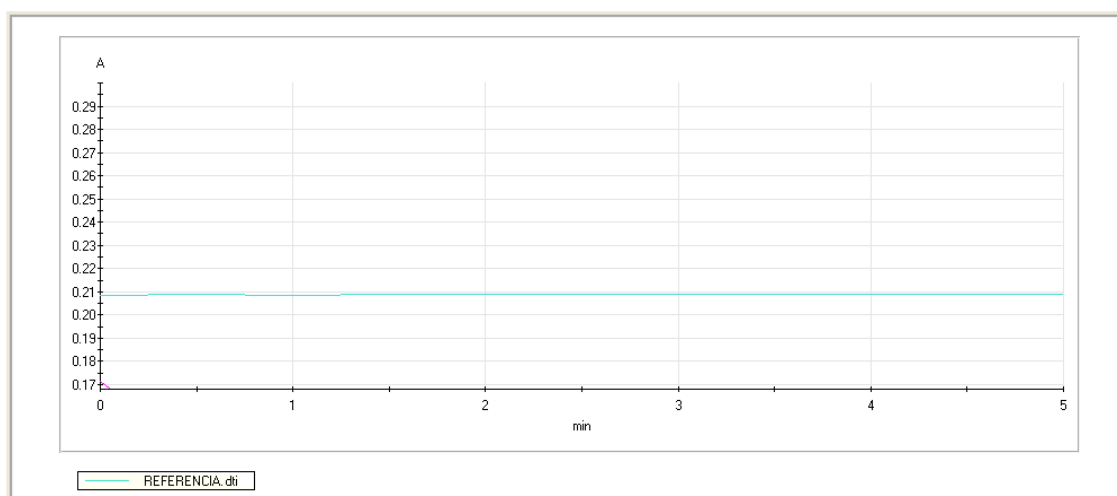
8.1.5 Medición de la absorbancia del patrón de referencia:

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80 **Medida :** 29 / 10 / 2013 11 : 57 : 10 pm

Archivo resultado :



| Nº | [min] | REFERENCIA.dti [A] |
|----|-------|-----------------------|
| 1 | 0.0 | 0.209 |
| 2 | 0.5 | 0.209 |
| 3 | 1.0 | 0.209 |
| 4 | 1.5 | 0.209 |
| 5 | 2.0 | 0.209 |
| 6 | 2.5 | 0.209 |
| 7 | 3.0 | 0.209 |
| 8 | 3.5 | 0.209 |
| 9 | 4.0 | 0.209 |
| 10 | 4.5 | 0.209 |
| 11 | 5.0 | 0.209 |

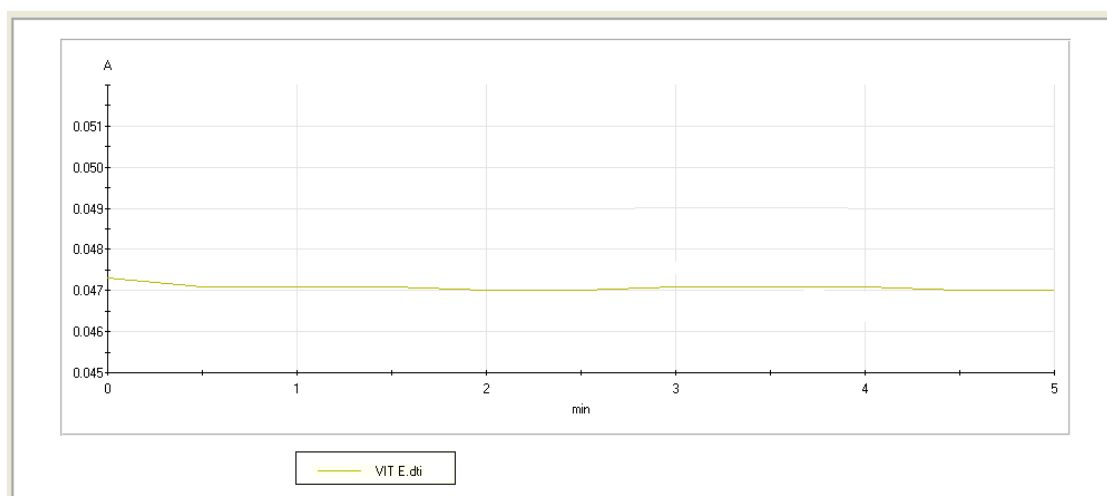
8.1.6 Resultados de la medición de la absorbancia del control (vitamina E 6%):

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)

Espectrofotómetro : Zeta Número de serie : 164501

Firmware : v8 . 00 v4 . 80 **Medida :** 29 / 10 / 2013 02 : 07 : 10 pm

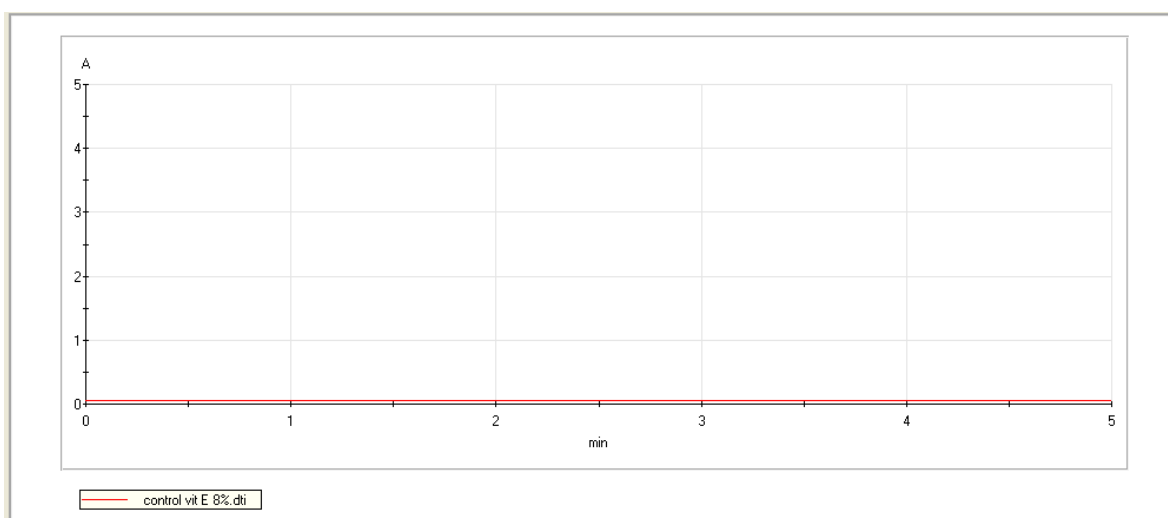
Archivo resultado :



| Nº | [min] | CONTROL.dti [A] |
|----|-------|--------------------|
| 1 | 0.0 | 0.047 |
| 2 | 0.5 | 0.047 |
| 3 | 1.0 | 0.047 |
| 4 | 1.5 | 0.047 |
| 5 | 2.0 | 0.047 |
| 6 | 2.5 | 0.047 |
| 7 | 3.0 | 0.047 |
| 8 | 3.5 | 0.047 |
| 9 | 4.0 | 0.047 |
| 10 | 4.5 | 0.047 |
| 11 | 5.0 | 0.047 |

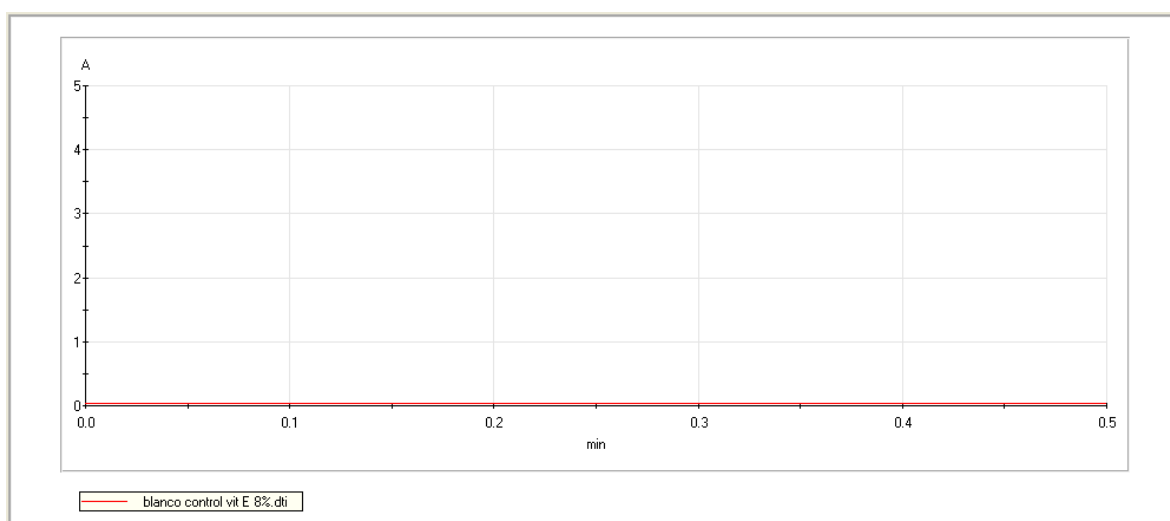
8.1.7 Medición de la absorbancia del control (vitamina E 8%):

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Última modific. : 24 / 06 / 2014 03 : 33 : 15 pm
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 03 : 34 : 22 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | control vit E 8%.dti [A] |
|----|-------|--------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.064 |
| 2 | 0.5 | 0.063 |
| 3 | 1.0 | 0.063 |
| 4 | 1.5 | 0.062 |
| 5 | 2.0 | 0.062 |
| 6 | 2.5 | 0.062 |
| 7 | 3.0 | 0.061 |
| 8 | 3.5 | 0.061 |
| 9 | 4.0 | 0.061 |
| 10 | 4.5 | 0.061 |
| 11 | 5.0 | 0.061 |

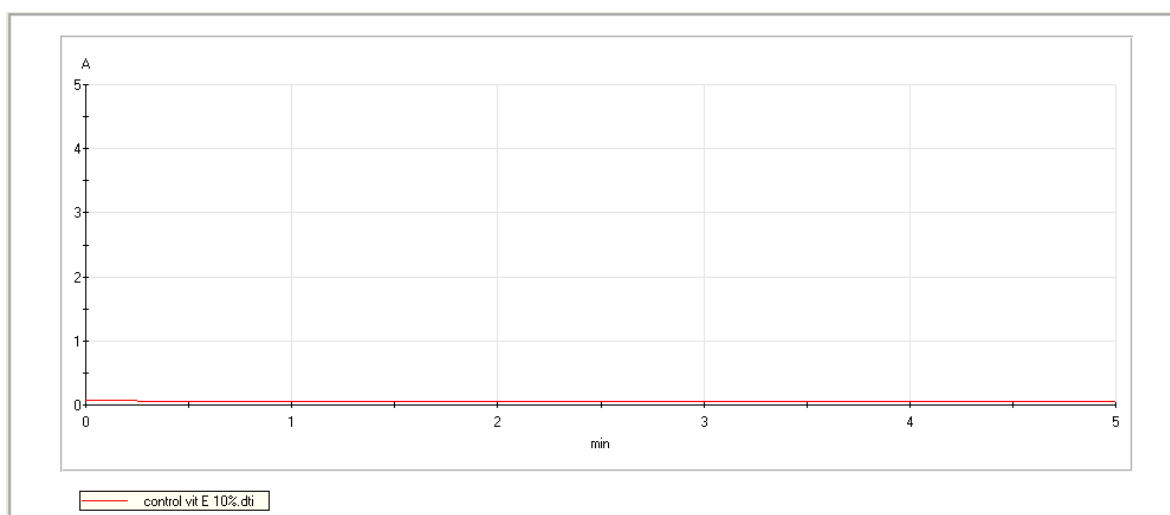
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Última modific. : 24 / 06 / 2014 04 : 19 : 55 pm
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 04 : 20 : 22 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | blanco control vit E 8%.dti [A] |
|----|-------|---------------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.042 |
| 2 | 0.5 | 0.042 |

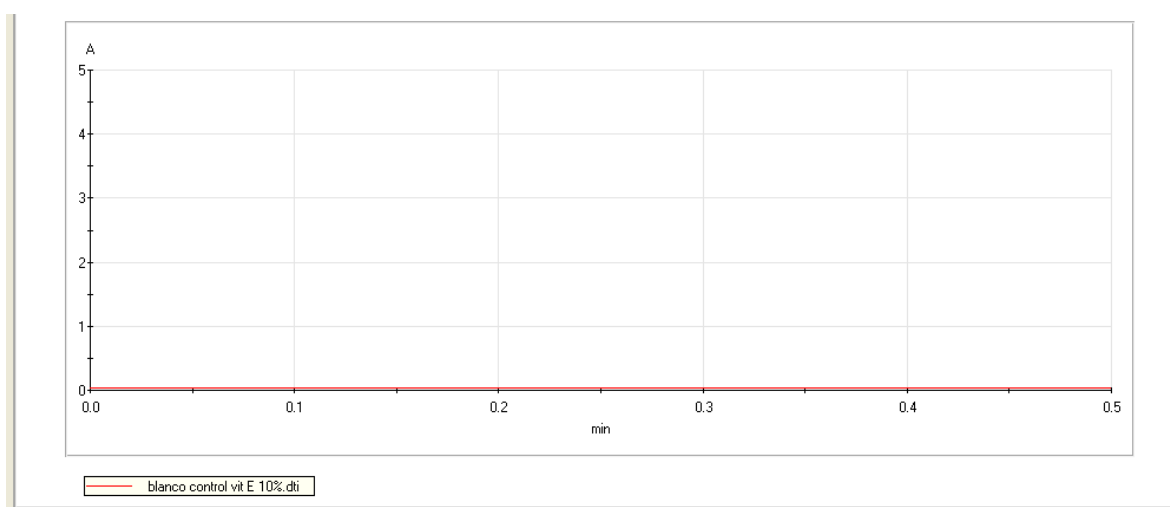
8.1.8 Medición de la absorbancia del control (vitamina E 10 %):

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Última modific. : 24 / 06 / 2014 03 : 24 : 15 pm
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 03 : 25 : 21 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | control vit E 10%.dti [A] |
|----|-------|---------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.066 |
| 2 | 0.5 | 0.063 |
| 3 | 1.0 | 0.062 |
| 4 | 1.5 | 0.062 |
| 5 | 2.0 | 0.062 |
| 6 | 2.5 | 0.062 |
| 7 | 3.0 | 0.062 |
| 8 | 3.5 | 0.062 |
| 9 | 4.0 | 0.062 |
| 10 | 4.5 | 0.062 |
| 11 | 5.0 | 0.062 |

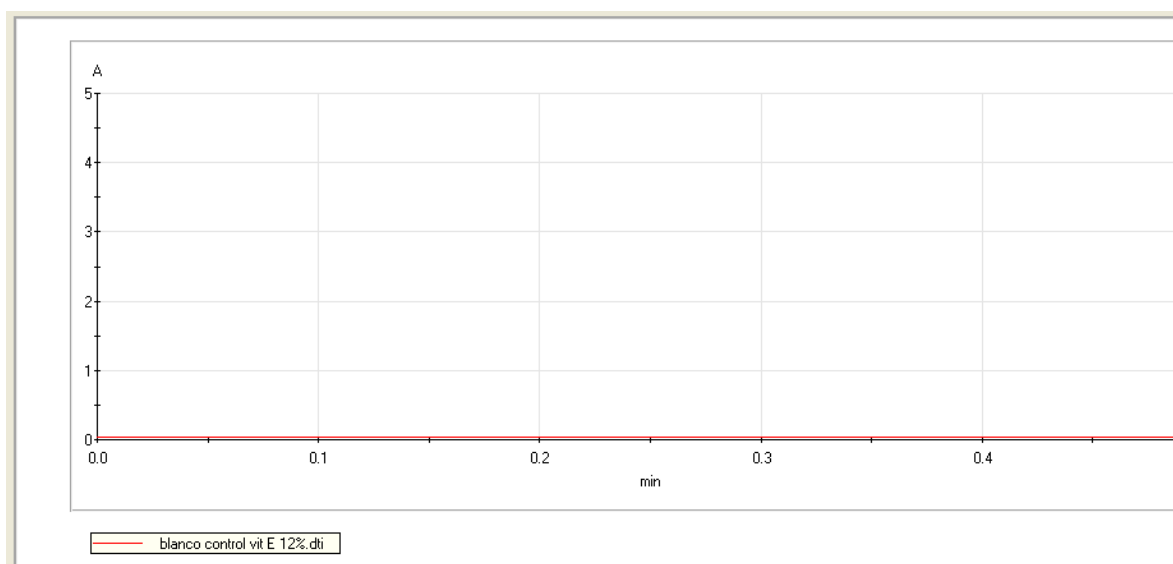
Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Última modific. : 24 / 06 / 2014 04 : 18 : 15 pm
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 04 : 19 : 22 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | blanco control vit E 10%.dti [A] |
|----|-------|-------------------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.040 |
| 2 | 0.5 | 0.041 |

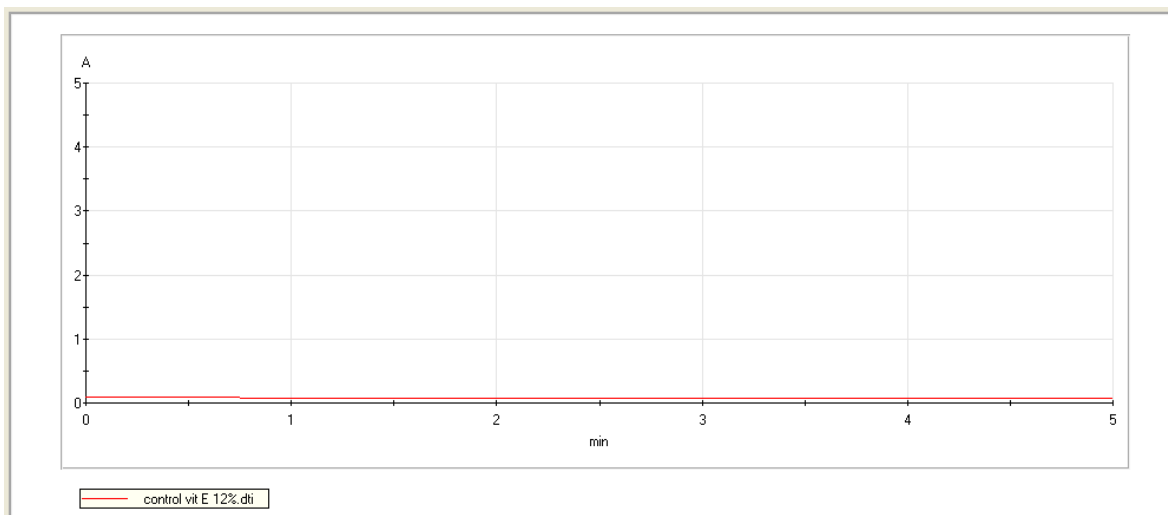
8.1.9 Medición de la absorbancia del control (vitamina E 12 %):

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Última modific. : 24 / 06 / 2014 04 : 13 : 15 pm
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 04 : 14 : 22 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | blanco control vit E 12%.dti [A] |
|----|-------|-------------------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.038 |
| 2 | 0.5 | 0.038 |

Método: actividad antioxidante DPPH .mra (517 nm)
Última modific. : 24 / 06 / 2014 03 : 46 : 15 pm
Espectrofotómetro : Zeta
Número de serie : 164501
Firmware : v8 . 00 v4 . 80
Medida : 24 / 06 / 2014 03 : 47 : 22 pm
Archivo resultado :



| Nº | [min] | control vit E 12%.dti [A] |
|----|-------|---------------------------|
| 1 | 0.0 | 0.085 |
| 2 | 0.5 | 0.083 |
| 3 | 1.0 | 0.083 |
| 4 | 1.5 | 0.082 |
| 5 | 2.0 | 0.081 |
| 6 | 2.5 | 0.082 |
| 7 | 3.0 | 0.082 |
| 8 | 3.5 | 0.081 |
| 9 | 4.0 | 0.081 |
| 10 | 4.5 | 0.081 |
| 11 | 5.0 | 0.081 |